ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
ANNÉE 1980 N° 41

ETUDE DU COMPLEMENT CHEZ LES ANIMAUX DOMESTIQUES

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
DIPLOME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Jean-Luc, Jacques, Pascal YONGER
Né le 16 Décembre 1955
à Neuilly sur Seine (Hts de Seine)

JURY :

PRÉSIDENT : Mme ENJALBERT
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

ASSESSEURS : M. LAUTIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. BODIN
Maître-Assistant Agrégé de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

1980

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1980 N° 41

ETUDE DU COMPLEMENT CHEZ LES ANIMAUX DOMESTIQUES

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
DIPLOME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Jean-Luc, Jacques, Pascal YONGER

Né le 16 Décembre 1955

à Neuilly sur Seine (Hts de Seine)

JURY :

PRÉSIDENT : Mme ENJALBERT
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

ASSESSEURS : M. LAUTIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. BODIN
Maître-Assistant Agrégé de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MARIE-ODILE

A SIMON et YVES

en témoignage de mon amour.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0016

A MES PARENTS

pour les sacrifices consentis et pour l'aide qu'ils m'ont apportée tout au long de mes études. Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon affection.

A MES GRANDS-PARENTS

A PHILIPPE, BEATRICE, PIERRE et MARIE

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Madame le Professeur ENJALBERT
De l'Université Paul Sabatier de Toulouse

qui nous a fait le très grand honneur
d'accepter la présidence de notre Jury
de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur LAUTIE

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

en reconnaissance pour l'enseignement qu'il nous
a prodigué et pour la profonde bienveillance avec
laquelle il nous a accueilli au sein de son service.

Monsieur BODIN
Maître-Assistant Agrégé de l'Ecole Nationale Vétérinaire
de TOULOUSE.

qui nous a inspiré le sujet de notre thèse.
En remerciement pour l'aide qu'il nous a apportée
et pour l'amitié qu'il nous a toujours montrée.

A Mademoiselle le Docteur GERAL
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

pour la gentillesse avec laquelle elle nous
a toujours accueilli dans son laboratoire.

A Monsieur PELLERIN
Maitre-Assistant à l'Ecole Nationale Vétérinaire
de TOULOUSE

en témoignage de notre amitié.

A Madame LACAZE

A Ginette , Henri, Madame TREVIZANUTTO, Madame CAYROU

pour la bonne humeur et la patience dont
ils ont toujours fait preuve à notre égard.

A TOUS NOS MAITRES.

Ministère de l'Agriculture

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeurs honoraires	MM. PONS FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD BERTHELON SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	M. GODFRAIN
Professeur sans chaire	Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant Agrégé	M. PUYT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	MM. RICO
Maître de Conférences	BRAUN
Maître-Assistant	BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie Biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	MM. PAVAUX
Maître-Assistant	LIGNEREUX
Maître-Assistant	SAUTET

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé	TOUTAIN

Physiologie - Thérapeutique et
Pharmacodynamie

.../

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire	CABANIE
Maître Assistant Agrégé	MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	MM. LABIE
Maître de Conférences	EECKHOUTTE
Maître-Assistant	Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	MM. DORCHIES
Maître-Assistant	FRANC
Maître-Assistant	DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire	MM. LESCURE
Maître de Conférences	GUELFI

Sémiologie et Pathologie Médicale des
Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	MM. TOURNUT
Maître de Conférences	BEZILLE
Maître-Assistant	JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	MM. CAZIEUX
Maître-Assistant Agrégé	GENEVOIS
Maître-Assistant	AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie
Chirurgicale - Clinique

.../

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM. FERNEY
Professeur sans chaire	ROYAL
Maître-Assistant Agrégé	TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM. CHANTAL
Maître-Assistant	GANIERE

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM. LAUTIE
Maître-Assistant Agrégé	BODIN
Maître-Assistant	PELLERIN

Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire	MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire	DARRE
Maître-Assistant	Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène Générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions Animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM. FALIU
Professeur sans chaire	GRIESS
Maître-Assistant Agrégé	PARAGON

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du IO Mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924.

PLAN

INTRODUCTION

1ÈRE PARTIE : ÉTUDE ANALYTIQUE DU COMPLÉMENT

I - GENERALITES -

- Définition et propriétés générales
- Historique
- Les différentes fractions
  - 1) - Nomenclature
    - a) - Voie classique
    - b) - Voie alterne
    - c) - Les inhibiteurs
  - 2) - Propriétés physico-chimiques
- Les voies d'activation
  - 1) - Voie classique
    - a) - Séquence
    - b) - Régulation
  - 2) - Voie alterne
    - a) - Conditions d'activation
    - b) - Séquence
    - c) - Régulation
- Les effets biologiques du complément
  - 1) - Effet de lyse
    - a) - Hémolyse
    - b) - Bactériolyse
    - c) - Virolyse
    - d) - Cytolyse
  - 2) - Effets élémentaires
    - a) - Réaction avec les complexes immuns : C_1q
    - b) - Neutralisation virale : C_4b
    - c) - Action sur les vaisseaux et les fibres musculaires lisses
    - d) - Action sur les cellules
    - e) - Conglutination
  - 3) - Complément et coagulation-hémostase
    - a) - Complément et coagulation-fibrinolyse
    - b) - Complément et plaquettes.

II - DOSAGE DE L'ACTIVITE GLOBALE DU COMPLEMENT

- Méthodes
  1) - Technique de Mayer et Kabat
     a) - Principe
     b) - Réactifs utilisés
     c) - Mode opératoire
  2) - Dosage cinétique

- Conditions optimales pour le titrage du complément
  1) - Système hémolytique
  2) - Conditions physico-chimiques

- Résultats.

III - MISE EN EVIDENCE DES DIFFERENTES FRACTIONS DU COMPLEMENT

- Méthodes
  1) - Méthodes de dosage
     a) - Les réactifs R
     b) - Méthode stoechiométrique
     c) - Immunodiffusion radiale de Mancini
  2) - Méthodes de fractionnement
     a) - Réaction de précipitation
     b) - Chromatographie

- Résultats
  1) - Dosage
  2) - Fractionnement

IV - MECANISMES D'ACTION

2ÈME PARTIE - APPLICATIONS

I - PHYLOGENIE ET ONTOGENIE

- Phylogénie
  1) - Embranchement des Invertébrés
  2) - Embranchement des Vertébrés
     a) - Classe des Agnathes
     b) - Classe des Chondrichtyens
     c) - Classe des Osteîchtyens
     d) - Classe des Batraciens
     e) - Classe des Reptiles

- Ontogénie
    1) - Apparition du complément dans l'organisme
        a) - Méthodes de dosage
        b) - Résultats
    2) - Lieux de synthèse
        a) - Méthodes
        b) - Résultats
    3) - Déterminisme génétique

II - ROLE DU COMPLEMENT DANS LES DEFENSES DE L'ORGANISME

- Infection bactérienne
    1) - Dans le sérum
        a) - Action du complément dans le cadre de l'immunité humorale
        b) - Action en collaboration avec les leucocytes.
    2) - Dans le colostrum et le lait

- Infection virale
    1) - Neutralisation et lyse
    2) - Cytotoxicité dépendant des anticorps (ADCC)

- Infestation parasitaire

III - COMPLEMENT ET PATHOLOGIE

- Toxicité des produits de contraste radiographique
- Choc endotoxinique
- Maladies bactériennes
- Maladies parasitaires
- Les Glomérulonéphrites
    1) - Glomérulonéphrite aiguë
    2) - Glomérulonéphrite membrano-proliférative
- Les déficits génétiques

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Parmi les nombreux composants du système immunitaire des animaux domestiques, le complément est sans doute un de ceux les moins étudiés. Et pourtant, comme le dit LACHMANN : "Si la complexité et le nombre des mécanismes qui contrôlent l'activation et l'équilibre d'une cascade d'enzymes reflètent vraiment son importance biologique, en ce cas les études sur le complément ne devraient au moins pas se révéler inutiles."

Ainsi allons-nous essayer, tout d'abord, d'apprécier et de "démonter" le mécanisme d'action lors de l'étude analytique, puis d'évaluer les diverses applications de ce système chez l'animal c'est à dire sa phylogénie et son ontogénie, puis son rôle, aussi bien dans les mécanismes de défense que dans certains états pathologiques.

N O T E

La notation des fractions du complément retenue dans ce travail place le chiffre en décalage par rapport à la lettre C, mais la lettre caractéristique d'une sous-fraction figure sur la même ligne que C.

exemple : C_3b

Dans cet exemple, la notation est équivalente à C3b.

PREMIERE PARTIE

ÉTUDE ANALYTIQUE DU COMPLÉMENT

Cette étude comporte, tout d'abord, l'appréciation de ce qu'est le complément, puis la façon de le doser, aussi bien par son activité globale que par ses différentes fractions que l'on a pu mettre en évidence chez les animaux domestiques.

I - GÉNÉRALITÉS

- DEFINITION ET PROPRIETES GENERALES -

Le complément désigne un ensemble de globulines, ou fractions, circulant à l'état inactif dans tout sérum animal normal et pouvant être activées dans un ordre bien déterminé et constant, sous l'influence de divers facteurs, ceux-ci étant le plus souvent de nature immune (complexes antigène-anticorps).

Cette activation, qui est un clivage enzymatique, induit la fixation des différentes fractions du complément sur le complexe antigène-anticorps et la dénaturation de l'antigène : c'est l'action lytique. Mais le complément joue aussi un rôle important dans l'accélération de la phagocytose, le chimiotaxis, l'anaphylaxie, la neutralisation virale ou la coagulation.

Les principales propriétés du complément sont les suivantes : son activité est limitée dans le temps : elle est réduite de 90% deux jours après la récolte du sérum si celui-ci est laissé à la température ambiante (20°C).

De plus, elle est thermolabile puisqu'elle disparaît par chauffage à 56°C pendant 30 minutes.

L'activation nécessite la présence de cations divalents : Ca^{2+} et Mg^{2+}.

La "fonction complément" n'est pas spécifique pour un individu, une espèce ou un complexe antigène-anticorps donné, bien que son substrat, c'est à dire ses fractions, qui sont des protéines, soit spécifique de l'individu.

Enfin, seuls certains complexes antigène-anticorps peuvent fixer le complément. Cette propriété est liée à la structure des anticorps : seules les IgG et IgM ont un site de fixation pour le complément sur le fragment Fc, alors que les IgA et les IgE n'en possèdent pas. De plus, chez l'Homme, parmi les IgG, on note des différences entre les sous-classes : les IgG_1 et IgG_3 fixent toujours le complément, les IgG_4 jamais et les IgG_2 de façon variable.

Le complément est étudié depuis déjà fort longtemps et les principales étapes de sa découverte permettent de dresser un bref historique.

- HISTORIQUE -

L'origine des connaissances sur le complément, liée à la microbiologie, remonte à près d'un siècle. En effet, dès 1889, BUCHNER (19) montre que, in vitro et dans certaines conditions, le sérum frais est capable de lyser, et donc de détruire les bactéries. Cette activité est abolie par chauffage à 56°C pendant 30 minutes. Il en conclut que cette propriété est due à un facteur thermolabile, qu'il baptise "alexine", c'est à dire "substance qui défend".

En 1894, PFEIFER (96) démontre que des vibrions cholériques injectés dans le péritoine de cobayes vaccinés contre le choléra s'immobilisent, se transforment en granules arrondis et se lysent. Un an plus tard, BORDET (14) découvre que ce phénomène peut se produire in vitro, seulement en présence de sérum. Puis il observe que la lyse des vibrions cholériques nécessite deux facteurs : l'un thermostable et présent dans le sérum des animaux vaccinés, l'anticorps, l'autre thermolabile et présent dans le sérum frais de tous les animaux, l'alexine.

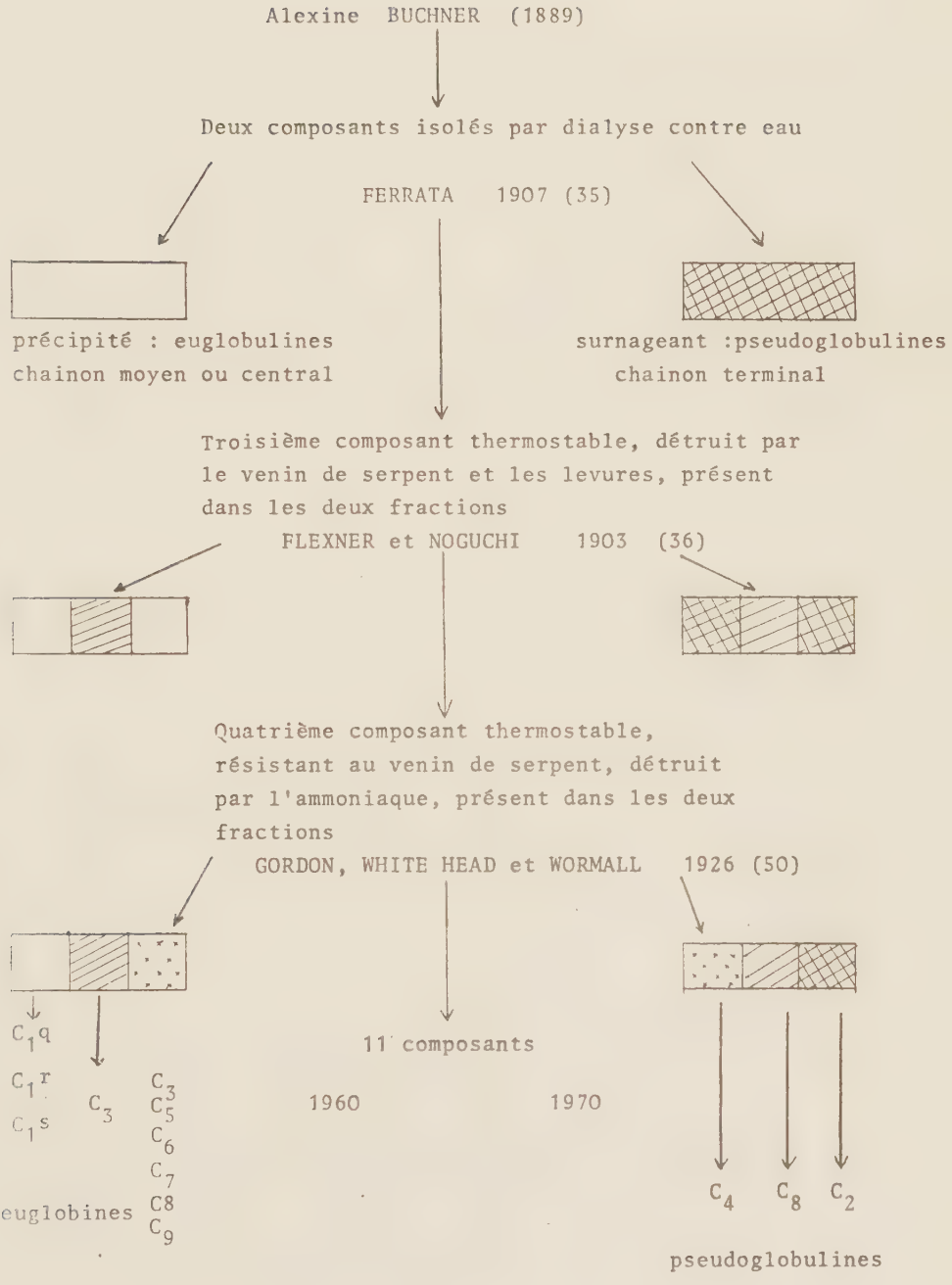


FIGURE 1
Mise en évidence des fractions du complément d'après STAUB et ETIEVANT(113)

En 1898, BORDET (15) poursuit ses travaux en mettant en évidence que le complément est nécessaire à la lyse des globules rouges sensibilisés par des anticorps spécifiques : cette réaction d'immunohémolyse fut à la base des recherches ultérieures. Le terme de complément apparaît en 1899 dans les travaux d'EHRLICH et MORGENROTH (32) qui étudient également l'hémolyse par les immunsérums.

Puis les recherches se portent sur le mécanisme d'action et sur la constitution du complément qui, à l'aide de techniques de plus en plus sophistiquées, est fragmenté en 11 composants (Figure 1). Ce sont les neuf fractions du complément reconnues aujourd'hui, la première fraction étant composée de trois sous-unités.

LES DIFFERENTES FRACTIONS

Les globulines formant le complément ont été répertoriées et caractérisées du point de vue physico-chimique.

1 - Nomenclature -

L'activation du complément pouvant se faire selon deux voies différentes, nous allons présenter les différentes fractions mises en jeu dans l'une ou l'autre voie. De plus, nous verrons dans un paragraphe séparé les inhibiteurs, c'est à dire les substances bloquant l'activité de certaines fractions du complément.

a) - Voie classique -

La réaction d'immunohémolyse a été choisie comme modèle d'étude, car elle est facile à réaliser et à interpréter.

En 1968, un Comité International réuni sous l'égide de l'O.M.S. a établi une nomenclature concernant la voie classique (20) Le complément est désigné par la lettre C et chacun des composants, dans leur ordre d'intervention au cours de la réaction d'immunohémolyse (sauf pour C_4), par les abréviations C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, et C_9. C_1 est en fait un complexe trimoléculaire formé de trois sous-unités : C_1q, C_1r, C_1s.

Les complexes intermédiaires sont formés d'hématies E (érythrocytes) sensibilisées par des anticorps antihématies A et d'un nombre variable de fractions du complément : par exemple, EAC_{142} correspond à E + A + C_1 + C_4 + C_2 et peut aussi s'écrire EAC_{12}. Lorsqu'un composant ou un groupe de composants porte une activité enzymatique, on ajoute une barre au-dessus du ou des chiffres correspondants : par exemple, C_{42} activé = $C_{\overline{42}}$ = C_3 convertase. Les fragments résultants du clivage enzymatique d'une fraction sont désignés par les lettres a, b, c... : par exemple, C_3a et C_3b. Un fragment inactif est noté i : exemple C_4i. Lorsqu'une hématie présente des lésions irréversibles, mais n'est pas encore lysée, on peut la noter E^*.

Enfin, on désigne par S le site antigénique de l'hématie qui réagit avec l'anticorps antihématie.

b) - Voie alterne -

Aucune terminologie officielle n'a été déterminée et les composants peuvent être rencontrés sous différents noms :

* properdine ou facteur P
* C_3 proactivateur ou C_3PA ou facteur B ou facteur GBG
* convertase du C_3PA ou facteur D
* initiating factor ou IF

On retrouve également la séquence C_3, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9

c) .- Les inhibiteurs

Ils sont désignés par l'abréviation du composant inhibé suivi des lettres INH, mise à part une exception :

* C_1sINH ou inhibiteur de la C_1 estérase
* C_3bINH ou K.A.F. ou Konglutinogen activating factor
* C_6INH
* C_3aINH et C_5aINH ou inhibiteurs des anaphylatoxines
* protéine β_1H

DENOMINATIONS	SYMBOLE	MOBILITE ELECTROPHORETIQUE	CONSTANTE DE SEDIMENTATION	POIDS MOLECULAIRE	THERMOLABILITE 56°C-30 mn	REMARQUES
Premier composant (formé de trois sous-unités)	C_1q C_1r C_1s	γ 2 β 1 α 2	11S 7S 4S	400.000 170.000 80.000	+ + +	Reliées par Ca^{2+}, les trois sous-unités forment C_1 qui activé devient la C_1 estérase.
Quatrième composant	C_4	β 1E	10S	240.000	0	Donne C_4a PM:15.000 C_4b qui se fixe
Deuxième composant	C_2	β 2	6S	117.000	+	Donne C_2a PM : 84.000 C_2b PM : 30.000 qui se fixe
Troisième composant	C_3	β 1C	10S	185.000	0	C_3a PM : 7.200 anaphylatoxine C_3b qui se fixe C_3c β 1A et C_3d α 2D
Cinquième composant	C_5	β 1F	8S	185.000	+	C_5a PM : 10.000 anaphylatoxine C_5b qui se fixe
Sixième composant	C_6	β 2	6S	125.000	0	
Septième composant	C_7	β 2	6S	120.000	0	
Huitième composant	C_8	γ 1	8S	150.000	+	
Neuvième composant	C_9	α 2	4S	80.000	+	
Initiating factor	IF	γ 1	7S			
Properdine	P	β agar γ 2 agarose	5,4 S	220.000	0	
C_3 proactivateur	C_3PA- B GBG	β 2	6S	80.000	+	C_3 activateur est γ PM:60.000
Convertase de C_3PA	D	α 2	3S	25.000à 40.000	+	
Inhibiteur de la C_1 estérase	C_1sINH	α 2	7S	80.000	0	inhibe C_1s, la plasmine et le facteur XII de coagulation
Inhibiteur de C_{3b}	C_3bINH KAF	β1	6S	100.000	0	
Inhibiteur de C_6	C_6INH	β1				mal connu
Inhibiteurs des anaphylatoxines	C_3aINH C_5aINH	α		310.000		mal connus
Protéine β_1H	β_1H	β1				

TABLEAU I : Propriétés physico-chimiques des différentes fractions du complément chez l'Homme.

2 - Propriétés physico-chimiques -

Les propriétés physico-chimiques ont été très étudiées chez l'homme. Elles sont résumées dans le Tableau I.

Ces connaissances permettent de séparer les différentes fractions, et ainsi d'étudier la formation de complexes intermédiaires et le déroulement de l'activation.

- LES VOIES D'ACTIVATION -

Les composants du complément sont sous forme inactive dans le sérum. Leur activation se fait, dans un ordre déterminé, selon deux voies : la voie classique et la voie alterne. Elles diffèrent initialement jusqu'à la mise en jeu de la fraction C_3, puis aboutissent à un tronc commun comprenant les ultimes étapes jusqu'à l'intervention de C_9 (Figure 2).

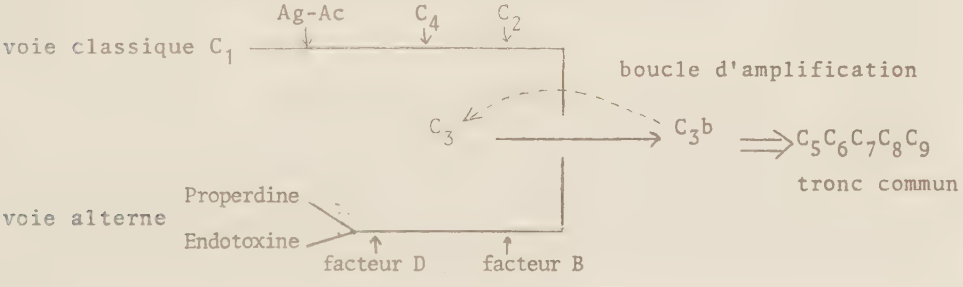


Figure 2 : Schéma simplifié de l'activation du complément

A la suite de son activation, le composant inactif se trouve scindé en deux fragments : un fragment polypeptidique d'activité variable et un composant activé doté d'une activité enzymatique. Ce dernier agit sur le composant suivant pour le scinder à son tour et l'activer, d'où activation en chaine. Ce phénomène peut être accéléré par la boucle d'amplification. C_3b exerçant un feedback positif sur le clivage de C_3 quelle que soit son origine.

Chacune des deux voies a été analysée en détails.

1) - Voie classique -

Il faut tout d'abord étudier la séquence proprement dite, divisée en trois phases, puis sa régulation.

a) - Séquence -

- Etape de reconnaissance -

Pour que la réaction puisse commencer, il faut des sites de fixation du complément. Ce sont :

- des immunoglobulines agrégées, dénaturées, traitées par la chaleur, normales ou myélomateuses.
- des bactéries ou des érythrocytes traités par les tanins ou des enzymes protéolytiques in vitro
- surtout des complexes antigène-anticorps, ces derniers étant des IgG 1,2 ou 3 ou des IgM. La fixation de l'immunoglobuline sur l'antigène induit une modification de la structure tertiaire au niveau du fragment Fc et ainsi démasque le site de fixation du complément.

Le C_1 est formé de trois sous-unités : C_1q, C_1r et C_1s liées par un ion calcium Ca^{2+}. C'est la sous-unité C_1q qui se fixe sur le complexe antigène-anticorps ; selon la nature de l'immunoglobuline, le nombre de sites nécessaire est différent : deux IgG sont indispensables alors qu'une IgM suffit. Le mode de fixation peut être représenté par le schéma de l'étoile (MAYER, 80)(Figure 3)

Schéma de l'étoile

Figure 3 : Fixation de C_1q sur le complexe antigène-anticorps

A la suite de cette fixation, le C_1q change de conformation ce qui active la protéase C_1r, qui active à son tour la proestérase C_1s en estérase $C_1\overline{s}$

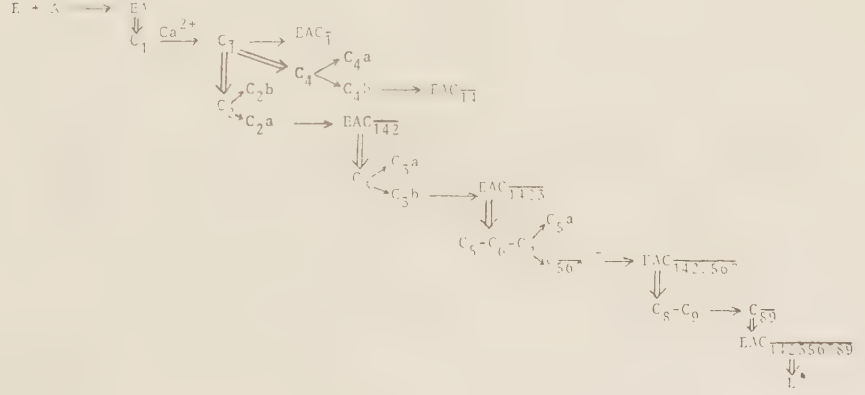
- Phase d'activation enzymatique -

Le complexe EAC_1s porte donc une activité estérasique au niveau de $C_{\overline{1s}}$; il agit ainsi sur C_4 et le clive en deux fragments : le plus petit, C_4a, est libéré dans le milieu et semble avoir une activité kininique. Le plus gros, C_4b, très réactif pendant quelques secondes, se fixe sur un récepteur membranaire différent, mais voisin, de celui des immunoglobulines. Puis EAC_{14b} agit sur C_2 et le clive. Le gros fragment, C_2a, se fixe sur le complexe en présence d'ions magnésium Mg^{2+}, et le petit, C_2b, est libéré, ayant également une activité kininique.

EAC_{14b2a} clive ensuite C_3 : C_3a est libéré et possède des propriétés anaphylatoxiques et chimiotactiques. C_3b peut se fixer sur un récepteur membranaire, pendant un temps très court. Si C_3 est absent du milieu, EAC_{14b2a} instable perd le fragment C_2a, mais le complexe restant peut refixer tout fragment C_2a activé. C'est la réaction de decay (ou "pourrissement").

- Phase d'attaque de la membrane -

C_5 est clivé par $EAC_{14b2a3b}$; le petit fragment C_5a libéré possède les mêmes propriétés que C_3a. C_5b se fixe sur le complexe précédent. C_6 et C_7 se fixent à leur tour, puis l'ensemble C_5b, C_6, C_7 occupe un nouveau site sur la membrane érythrocytaire. C_8 et C_9 se fixent à ce niveau : C_8 induit l'hémolyse qui est potentialisée par C_9. En reprenant les abréviations de l'O.M.S., la réaction se produit de la façon suivante :



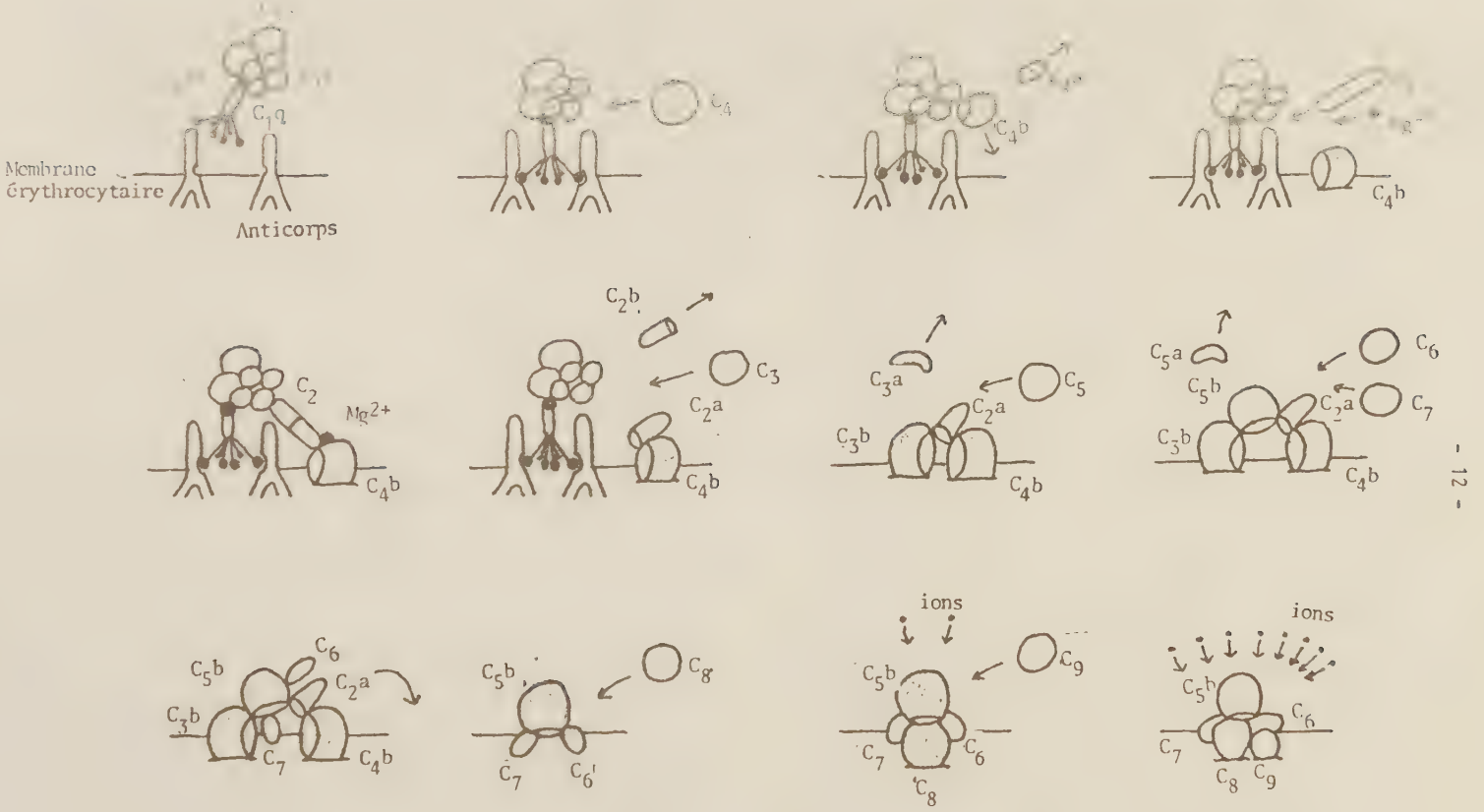


Figure 4 : Activation du complément par la voie classique (d'après MAYER)

Ceci peut être illustré par le schéma de Mayer (80)(Figure 4) Au niveau des sites de fixation de C_8 et C_9, encore appelés sites SM, se forment des trous, d'un diamètre interne d'une dizaine de nanomètres, (la taille varie selon le complexe Ag-Ac en cause). Ces trous ont pu être photographiés au microscope électronique (MAYER, 80).

b) - Régulation -

- Economie moléculaire -

La réaction peut être limitée par le fait que certains composants ont une faible durée de vie (C_2,C_3,C_5). De plus, $EAC_{\overline{142}}$ est instable et peut repasser sous la forme $EAC_{\overline{14}}$.

Par contre, un intermédiaire peut activer plusieurs composants suivants, ce qui amplifie le phénomène. Par exemple, $EAC_{\overline{1}}$ peut produire plusieurs sites $EAC_{\overline{142}}$ (seul C_1r ne peut activer qu'un ou deux C_1s).

- Les inhibiteurs -

Les inhibiteurs cités précédemment limitent de façon importante les effets de la réaction. Ils agissent au niveau de C_1s, C_3b et C_6, ainsi que sur les anaphylatoxines C_3a et C_5a.

De plus, les conglutinines bloquent la séquence au niveau de C_3, soit par l'intermédiaire de C_3bINH (ou KAF) s'il s'agit de la conglutinine classique, soit directement s'il s'agit d'une immunoconglutinine.

Cette voie classique est donc le plus souvent activée par un complexe antigène-anticorps ; ainsi, lors d'une agression extérieure, elle ne pourra être utilisée par l'organisme qu'après le délai nécessaire à la synthèse de ces anticorps.

Mais ce "défaut" est compensé par l'autre voie : la voie alterne.

2) - La voie alterne -

La voie alterne est beaucoup moins bien connue, car d'étude plus difficile. Différentes substances provoquent le déclanchement de sa séquence qui, elle aussi, possède un mécanisme de régulation.

a) Conditions d'activation -

Pour que le complément puisse être activé par cette voie, il faut un stimulus de départ. Cela peut être :

- des complexes antigène-anticorps avec sites de fixation du complément, c'est à dire formés d'IgG ou d'IgM.
- des complexes d'immunoglobulines agrégées, avec ou sans sites de fixation du complément (IgG_4, mais surtout IgA)
- le cobra venon factor (CoVF) extrait du venin de cobra, mais présent à l'état de traces dans tout sérum animal.
- des substances non immunologiques (zymosan, inuline)
- surtout les lipopolysaccharides des bactéries Gram négatif, et ceci sans réaction antigène-anticorps.

Toutes ces substances activent un facteur initial IF (Initiating factor) de nature incertaine, alors que la properdine ne semble intervenir que plus tard.

b) - Séquence d'activation (Figure 5) -

La substance provoquant le stimulus initial réagit avec l'IF, qui serait peut-être la forme native inactive du C_3NeF isolé dans les glomérulonéphrites hypocomplémentémiques et capable d'activer le C_3 d'un sérum frais normal. L'initiating factor est alors activé ($\overline{IF}$) et réagit avec le facteur B, le facteur D, les ions Mg^{2+} et C_3 natif pour former une C_3convertase initiale au niveau d'un site S_I. Cette convertase semble active sans que le facteur B soit activé. Elle clive alors le C_3 natif et induit la fixation de C_3b sur un site S_{II} de la particule activatrice. La demie-vie de cette enzyme est très courte du fait du decay du facteur B (2mn à 37°C).

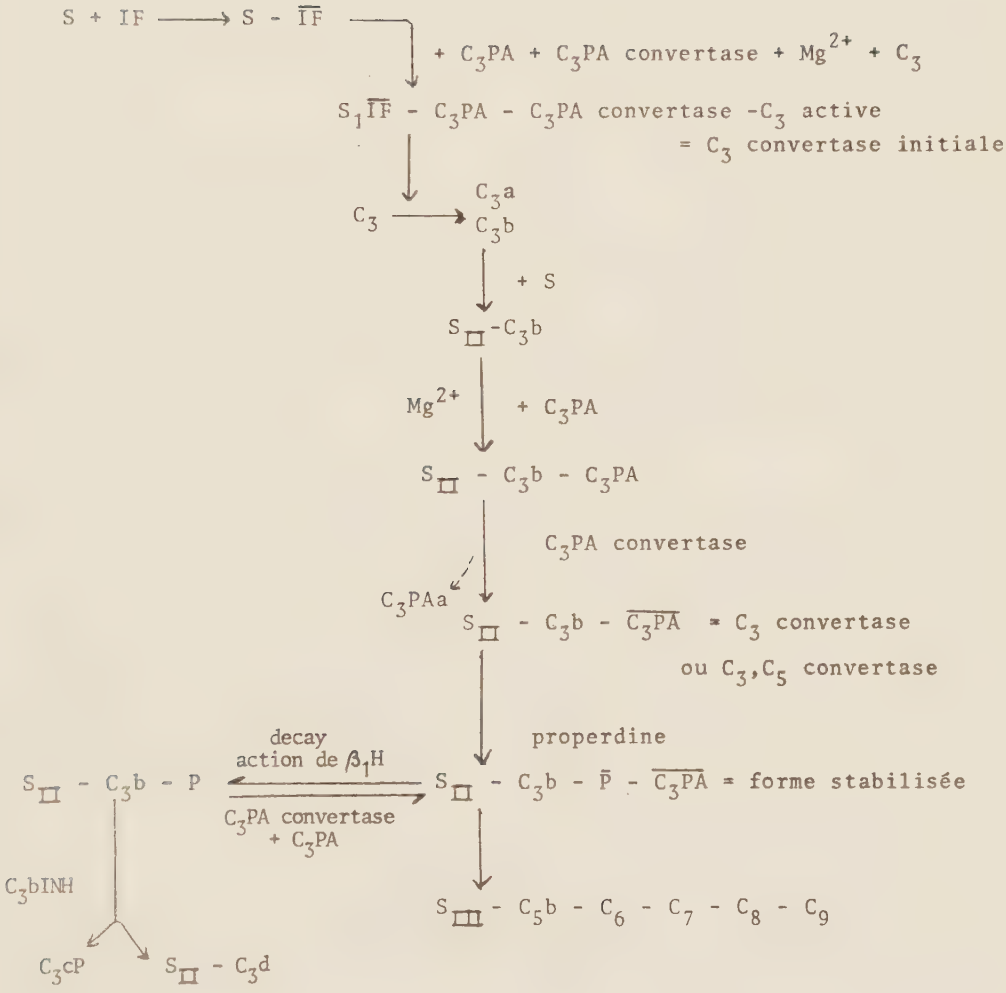


Figure 5 : Activation du complément par la voie alterne

d'après MÜLLER-EBERHARD (51)

En présence de Mg^{2+}, le complexe S_{II} - C_3b fixe le facteur B, qui peut alors être activé par le facteur D. On aboutit alors à la formation d'une C_3 convertase si une seule molécule de C_3b est présente dans le complexe ou d'une C_3-C_5 convertase si plusieurs molécules de C_3b sont présentes dans le complexe.

Ces convertases labiles (demie-vie de 4 mn à 30°C) peuvent être stabilisées par la properdine activée (ou le C_3NeF). Ce mécanisme, portant la demie-vie à 60 mn à 30°C, se produit chez un organisme normal. On a alors clivage du C_3 natif et du C_5 et activation de la séquence terminale sur un site S_{III} de la particule activatrice.

L'effet decay relâche le facteur B de la convertase, mais la réaction reste réversible.

Bien qu'in vitro, la properdine ne semble jouer qu'un rôle tardif, son absence in vivo entraîne une forte diminution de la résistance naturelle aux infections (phénomène basé sur le manque d'activation de la voie alterne).

c) - Régulation -

- Contrôle intrinsèque -

L'effet decay relâche le facteur B des C_3 et C_5 convertases. Par contre, la properdine activée et C_3NeF stabilisent ces convertases.

- Contrôle extrinsèque -

- Protéine β_1H : Cette protéine détache le facteur B des convertases. L'effet se produit aussi lors de la stabilisation par $\bar{P}$, mais est très atténué lorsque C_3NeF assure la stabilité du complexe.
- Inactivateur de C_3b (C_3bINH) : Ce facteur agit sur S_{II} C_3bP. Il clive C_3b en C_3c et C_3d, de façon irréversible.

On peut donc remarquer que les malades possédant du C_3NeF dans leur sérum échappent aux trois moyens de contrôle exposés.

Ainsi, la voie alterne qui court-circuite les premières étapes, ne nécessite pas la présence d'anticorps, et de ce fait, peut agir sans délai lors d'une agression de type bactérien, viral ou parasitaire. Après avoir étudié les deux voies d'activation du complément, voyons quelles sont ses activités biologiques importantes.

- LES EFFETS BIOLOGIQUES DU COMPLEMENT -

La séquence complète de l'activation aboutit au phénomène de lyse, qui peut s'appliquer à des substrats variés : globules rouges, bactéries, virus, ou autres cellules. Mais d'autres composants libérés à différentes étapes ont aussi un rôle important, de nature variée.

1) - Effet de lyse -

Quelle que soit la cellule attaquée, la lyse se produit toujours de la même façon : au niveau du site SM, le trou créé par le complément permet la fuite du potassium et l'entrée de sodium et d'eau dans la cellule (le faible diamètre, 8 à 10 nm ne permet pas la fuite des protéines). Ainsi la cellule gonfle et éclate. D'après MAYER (80), un seul trou dans la cellule déclenche le phénomène de lyse ("one-hit theory").

Selon le type de cellules incriminées, on peut distinguer:

a) - Hémolyse -

C'est la réaction de base pour l'étude du complément. Elle sert d'ailleurs également à mettre en évidence le type de cellule synthétisant les hémolysines par la technique de Jerne (plages d'hémolyse). In vivo, ce phénomène se rencontre lors d'incompatibilité dans le système ABO (accident de transfusion et maladie hémolytique du nouveau-né) ou d'hémoglobinurie paroxistique afrigore.

Mais le complément n'intervient pas dans tous les phénomènes d'hémolyse ; les autres causes sont très nombreuses : poî-

kilocytose, hémoglobine anormale, piroplasmose....

b) - Bactériolyse -

Le mécanisme de base est identique, mais la bactérie présente des particularités structurales : elle possède, en plus de la membrane cytoplasmique, une paroi. Ainsi la réaction antigène-anticorps se produit sur cette paroi, ce qui provoque l'activation des fractions du complément. Celles-ci traversent alors la paroi et se fixent sur la membrane cytoplasmique au niveau de récepteurs privilégiés. On peut ensuite distinguer trois étapes : tout d'abord formation de la lésion en cratère avec phénomène d'osmose, puis action enzymatique des fractions activées sur les phospholipides de la paroi, ce qui provoque la mort des bactéries Gram négatif, enfin activation des enzymes lysosomiales qui agissent sur le mucopeptide et entraînent l'éclatement.

Ce mécanisme est très important puisqu'il joue un rôle important et de mieux en mieux connu dans les défenses de l'organisme.

c) - Virolyse -

Au niveau de l'enveloppe virale, le complément peut également être activé et aboutir à la formation des trous caractéristiques. Là encore, ce sont les phospholipides qui sont attaqués. Cette réaction semble ne se produire qu'en présence d'un hétérosérum, c'est à dire d'un sérum provenant d'une espèce autre que celle infectée par le virus, car l'homosérum, originaire de l'espèce infectée, est incapable de reconnaître l'enveloppe virale comme antigéniquement étrangère, et donc ne l'attaque pas.

d) - Cytolyse -

L'action peut s'exercer sur des cellules nucléées libres ou en tissu. La membrane est toujours le siège des lésions caractéristiques. D'autre part, les mitochondries gonflent et éclatent, et les enzymes sont activées, ce qui aboutit à la cytolyse. Le noyau persiste toujours en dernier.

Ce mécanisme joue un rôle important dans le rejet des

greffes ainsi que dans les maladies auto-immunes (Lupus erythemateux disséminé). De plus, le complément peut induire la lyse de cellules infectées par des virus. Enfin, la lyse de lymphocytes à l'aide de sérum anti et de complément de Lapin permet la détection des systèmes majeurs d'histocompatibilité.

2) - Effets élémentaires -

Nombreuses sont les fractions du complément qui possèdent une action particulière et la révèlent lors de leur libération dans le milieu.

a) - Réaction de précipitation avec les complexes immuns : C_1q

La structure de C_1q lui permet d'agréger les complexes immuns ou les agrégats d'immunoglobulines. Cela a pour conséquence une augmentation de la taille de ces complexes, ce qui faciliterait leur élimination par phagocytose et une meilleure cohésion antigène-anticorps.

Mais si ces complexes se déposent au niveau de certains tissus, l'activation complète du complément peut aboutir à la formation de lésions histologiques, par exemple lors de glomérulonéphrite.

b) - Neutralisation virale : C_4b

A l'action de lyse des cellules infectées par un virus s'ajoute celle de C_4b, associé à C_1 qui, fixé sur un complexe virus-anticorps anti-virus, neutralise son activité. On pense que C_4b s'attache à la membrane du virus et empêche l'infection de la cellule.

c) - Action sur les vaisseaux et les fibres musculaires lisses

- $\overline{C_1s}$ - La C_1 estérase possède la propriété d'augmenter la perméabilité vasculaire. D'ailleurs, un déficit génétique en inhibiteur de $\overline{C_1s}$ est responsable chez l'homme de l'oedème angioneurotique héréditaire.

-C_2b et C_4a - Le clivage de C_2 par la C_1estérase entraîne la formation d'un peptide de faible poids moléculaire : C_2b. De même, C_4a naît du clivage de C_4. Ces deux polypeptides exercent une action kininique : hypotension, transudation plasmatique, spasmes bronchiques et intestinaux.

-Anaphylatoxines C_3a et C_5a - Ces anaphylatoxines, injectées par voie intradermique, provoquent la formation d'un érythème instantané, alors que par voie intra-veineuse, elles déclenchent un choc anaphylatoxinique immédiat, caractérisé par un spasme bronchique, un emphysème pulmonaire, une constriction coronaire, un erythème, de l'urticaire et une augmentation diffuse de la perméabilité capillaire. L'action peut être directe, mais les anaphylatoxines induisent également la libération d'histamine vaso-active, de sérotonine et d'héparine en provoquant la dégranulation des granulocytes basophiles et des mastocytes. Ces réactions peuvent être inhibées par la présence de C_3INH et C_5INH qui hydrolysent de façon enzymatique les anaphylatoxines.

d) - Action sur les cellules -

- Chimiotactisme : C_3a.C_5a. C_{5b67} -

Cette action s'exerce vis à vis des leucocytes : ceux-ci sont alors attirés vers le foyer inflammatoire.

C_5a semble le plus actif de ces trois facteurs. Le mode d'action est mal connu : diminution de la charge négative de surface des cellules, ou activation d'une protéase de la membrane leucocytaire.

De plus, WARD et coll. (121) ont mis en évidence un facteur chimio-tactique libéré à partir de C_5 par les extraits tumoraux, mais plus petit que C_5a, et n'exerçant son activité que sur les cellules tumorales, ceci favorisant la croissance de métastases.

- Action intracellulaire de C_5a -

Si à une suspension de granulocytes prétraités par la cytochalasine B (qui bloque la phagocytose, mais permet aux cellules de répondre par une extrusion lysosomiale à une incitation de membrane), on ajoute du C_5a, on observe une libération extracellulaire des enzymes lysosomiales, une dégranulation cellulaire, une

fusion des lysosomes avec la membrane cellulaire et un rassemblement transitoire des microtubules. C_5a agirait par l'intermédiaire de l'acide guanylique ou guanosine monophosphate (GMP) qui règlerait le trafic intracellulaire des organites.

- Opsonisation -

C'est une accélération de la phagocytose liée à la sensibilisation de la particule antigénique par des anticorps et à l'activation du complément.

La fraction responsable de cette activité est C_3b, et l'activation peut se faire par la voie classique ou la voie alterne.

Lors du clivage de C_3, C_3a exerce son rôle leucotactique et le complexe antigène-anticorps se fixe sur la membrane du phagocyte. Deux mécanismes semblent intervenir en coopération : fixation sur un récepteur de C_3b et fixation sur un récepteur de site Fc des immunoglobulines, celles-ci devant être déplissées, c'est à dire dénaturées ou fixées à un antigène (Figure 6).

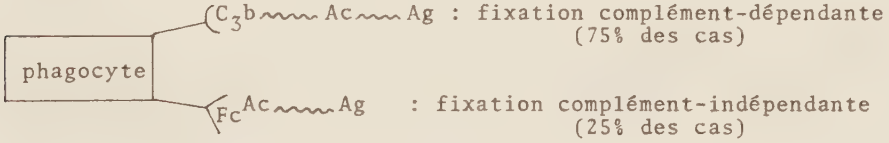


Figure 6 : Fixation des complexes antigène-anticorps sur la membrane des phagocytes.

Il semble que les IgM ne soient pas opsonisantes par elles-mêmes. Au contraire, lorsqu'on est en présence d'IgG, le rôle de C_3b est important pour la phase d'adhérence et celui des IgG pour la phase d'ingestion.

D'après certains auteurs, d'autres fractions (C_3d et C_5) joueraient également un rôle dans l'opsonisation.

- Immunoadhérence -

Ce phénomène est très proche de l'opsonisation, mais l'ensemble C_3b Ac Ag est fixé sur un support (hématie, leucocyte, ou plaquette chez l'homme) et le tout est phagocyté, C_3b agissant sur les récepteurs de membrane des phagocytes.

Pour de nombreux auteurs, opsonisation et immunoadhérence ne sont qu'un même phénomène.

e) - Conglutination -

Ce phénomène se traduit in vitro par l'agglutination des hématies grâce à l'intervention de C_3 et d'une autre protéine : la conglutinine. On distingue deux sortes de conglutinines : la conglutinine classique, isolée pour la première fois du sérum de Bovin, et l'immunoconglutinine.

- Conglutination classique -

La conglutinine est une protéine de poids moléculaire PM : 75.000 et de mobilité électrophorétique β .

Elle se fixe sur la portion C_3b des complexes C_3b~~Ac~~Ag :

Ag~~Ac~~C_3b — Co — C_3b~~Ac~~Ag

Le K.A.F. (Konglutinogen Activating Factor, ou C_3bINH) exerce une action enzymatique sur C_3 et découvre le site de fixation de la conglutinine appelé conglutinogène. Donc le K.A.F. provoque l'inactivation de C_3b.

Le pouvoir conglutinant du complément varie selon les espèces.

- Immunoconglutinine -

C'est en fait un anticorps anti C_3b présent à l'état normal en faible quantité, mais apparaissant surtout lors de circonstances pathologiques : maladies infectieuses à complexes antigène-anticorps persistants ou maladies auto-immunes.

Tous ces effets biologiques élémentaires mettent en relief le rôle très important que joue le complément dans l'in-

flammation à différents niveaux. Mais ce n'est pas le seul système avec lequel il interagit ; il y a aussi la coagulation.

3) - Complément et coagulation-hémostase -

Le complément interfère avec le système coagulation-fibrinolyse mais aussi avec les plaquettes.

a) - Complément et coagulation-fibrinolyse -

Certaines fractions semblent indispensables au bon déroulement de la coagulation. Cela a été démontré en 1971 par ZIMMERMAN (123) chez le Lapin : les lignées déficientes en C_6 présentent une augmentation du temps de coagulation, une consommation de prothrombine faible et incomplète, un caillot de mauvaise qualité. Si on injecte du C_6 purifié à ces lignées, la coagulation redevient normale. Mais ce phénomène n'est pas retrouvé chez l'homme.

Des expériences menées in vitro permettent de schématiser le rôle du complément dans ce système (Figure 7) :

- Le facteur XII (de HAGEMAN) semble jouer un rôle clé par son action directe sur les voies classique et alterne.
- La plasmine et la Kallicréîne induisent l'activation de C_1s
- La plasmine et la thrombine permettent le clivage de C_3 en C_3a et C_3b, et de C_3b en C_3c et C_3d.
- L'inhibiteur de C_1s (C_1sINH) exerce son action au niveau de la fibrinolyse, de la coagulation et du système des Kinines.

b) - Complément et plaquettes -

Les plaquettes du Lapin possèdent un site d'immunoadhérence pour C_3b ; ainsi, lors d'activation du complément par des complexes immuns ou des endotoxines, il se forme des complexes particule-C_3b adhérents aux plaquettes, ce qui induit la genèse de complexes C_5-C_9 aboutissant à la lyse des plaquettes, la libération du contenu et la coagulation par libération du facteur plaquettaire PF_3.

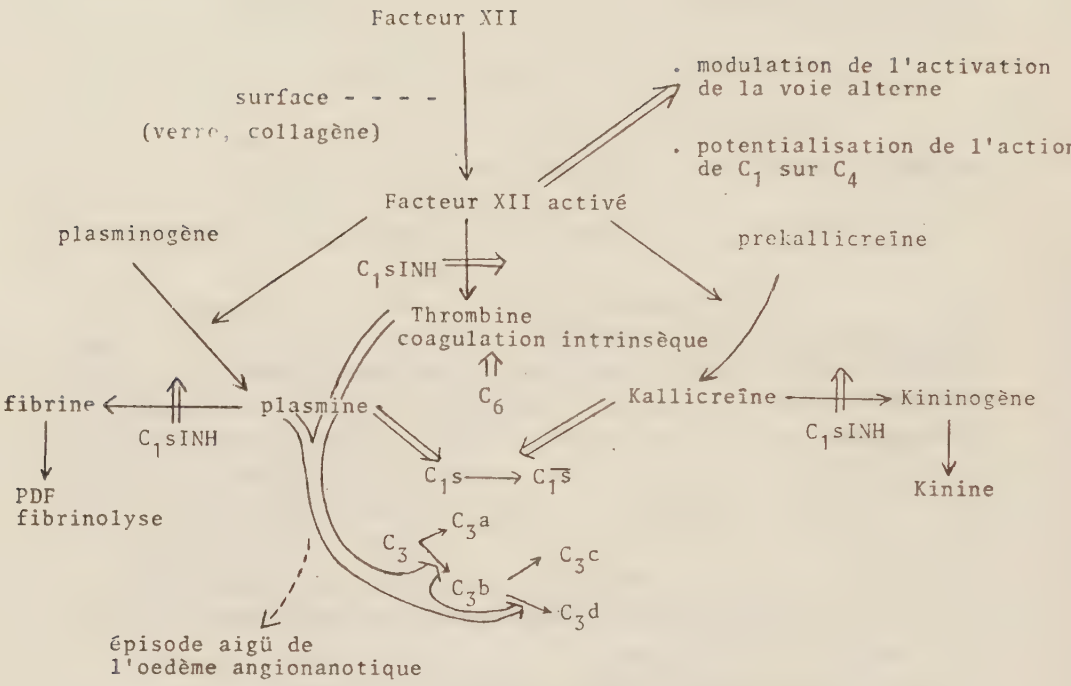


Figure 7 : Interactions complément et coagulation-fibrinolyse. d'après PELTIER (94)

Chez l'homme, ce site n'existe pas et les relations semblent plus complexes : l'association préférentielle de C_1 aux plaquettes par l'intermédiaire de C_4 joue un rôle déterminant dans les réactions plaquettes-complexes immuns et plaquettes-immunoglobulines agrégées. De plus, C_1q peut inhiber l'interaction plaquettes-collagène, phénomène important lors de la formation du thrombus. Nous verrons lors des applications en pathologie le rôle important que joue le complément dans la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD).

Ces généralités montrent donc à la fois la complexité et l'importance du système complémentaire. Pour le mettre en évidence et le quantifier dans l'organisme, afin de s'assurer de son bon fonctionnement, il faut effectuer le dosage du complément.

II - DOSAGE DE L'ACTIVITÉ GLOBALE DU COMPLÉMENT -

Ce dosage repose sur le principe de l'immuno-hémolyse : c'est l'appréciation de la plus petite quantité de sérum frais capable d'hémolyser un nombre donné de globules rouges sensibilisés par la sérum hémolytique. L'étude du dosage du complément peut sembler trop technique, ou tout au moins, prendre une trop grande place dans ce travail, mais il est nécessaire de souligner que d'une part, elle rassemble les données indispensables à connaître avant de mettre sur pied une technique, et que d'autre part, ce dosage est à la base de tous les travaux que nous verrons dans les applications.

- METHODES -

Mise à part la technique de dosage pondéral de HEIDELBERGER qui évalue la quantité d'azote apportée par le complément, mais qui n'est jamais employée en pratique courante, deux méthodes sont utilisées : la méthode d'hémolyse de MAYER et KABAT (70) et le dosage cinétique.

1 - Technique de MAYER et KABAT -

a) - Principe -

La courbe d'hémolyse en fonction de la concentration en complément, exprimée en millilitres de sérum dilué, obéit à la loi de Gauss (Figure 8).

La lecture de l'hémolyse est réalisée au photomètre. Deux unités peuvent être employées : l'unité d'hémolyse 50% correspond à la quantité de complément capable d'hémolyser 50% des hématies sensibilisées ; l'unité d'hémolyse 100% correspond à la quantité de complément capable d'hémolyser la totalité des hématies sensibilisées.

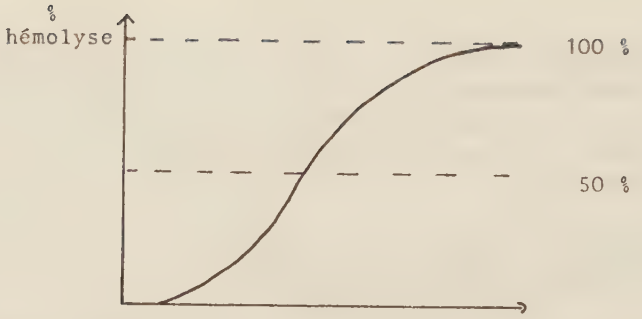


Figure 8 : Courbe d'hémolyse en fonction de la concentration en complément

Cette dernière est peu précise, car le point 100 % correspond au sommet de la courbe, alors que le point 50 % coïncide avec le point d'inflexion de la courbe.

b) - Réactifs utilisés -

- Tampon de MAYER et LEVINE - les suspensions d'hématies, la dilution de sérum hémolytique et les dilutions sériques sont réalisées dans ce tampon, de pH = 7,4. Il est composé de veronal, de veronal sodique, de chlorure de calcium hydraté, de chlorure de magnésium hydraté, de chlorure de sodium et d'eau bidistillée. Mais d'autres tampons peuvent être également utilisés.

- Suspension d'hématies à 1% - cette suspension est standardisée, la concentration étant ajustée par mesure au photocolorimètre de l'hémolyse provoquée par l'eau bidistillée. L'origine des hématies varie selon l'espèce chez laquelle on dose le complément. Par exemple, on utilise des hématies de Porc pour doser le complément du Cheval et des hématies de Cobaye pour doser le complément de Bovin.

- Sérum hémolytique anti-hématies -celui-ci est le plus souvent préparé par injections d'hématies à un animal de laboratoire, dont ensuite on prélève le sang. Le sérum est alors chauffé à 56° pendant 30 mn. pour éliminer le complément. Les globules rouges sont sensibilisés par ce sérum contenant assez d'anticorps, c'est à dire plus d'une unité hémolytique 50 % de complément par millilitre (UCH 50/ml).

- sérum à doser - le sérum frais est dilué selon une progression arithmétique. Il peut être conservé par congélation à - 20°C en vue de dosages ultérieurs. D'après NAGY et FODOR (84), la durée de stockage est augmentée en ajoutant 0,25 g de chlorure de calcium, 0,25 g de sulfate de magnésium et 2,5 g de sucre pour 100 ml.

c) - Mode opératoire -

On place dans la série de tubes le sérum à tester dilué, contenant le complément ; puis on rajoute une quantité définie de globules rouges sensibilisés. Le volume total est égalisé par addition de tampon.

L'ensemble est laissé une heure à l'étuve à 37°C, puis centrifugé. On recherche le tube contenant 1 UCH 50 déterminée au photomètre. Connaîssant la dilution et le volume, on en déduit le nombre d'UCH 50 contenues dans 1 ml de sérum.

Cette méthode a été automatisée selon la technique de VARGUES (119) à l'aide de l'auto-analyseur Technicon.

2 - Dosage cinétique -

En faisant varier le taux de complément, on étudie la variation du pourcentage d'hémolyse en fonction du temps (Figure 9).

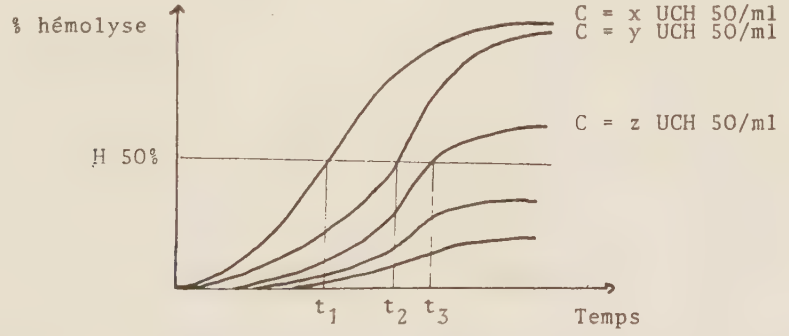


Figure 9 : Variation du pourcentage d'hémolyse en fonction du temps, pour différents taux de complément.

Chaque courbe est caractéristique d'une concentration donnée de complément. On cherche alors à obtenir l'hémolyse 50% : le temps d'obtention est caractéristique de la concentration en complément. Deux techniques peuvent être utilisées : mise en évidence du temps nécessaire pour obtenir l'hémolyse 50 %, ou détermination de l'hémolyse produite au bout d'un temps donné. Mais ce dosage est rarement réalisé en pratique courante. Le dosage de l'activité du complément chez les animaux a longtemps donné des résultats variables, car les conditions expérimentales n'avaient pas été standardisées. Il importe donc d'étudier quelles sont les conditions optimales de titrage du complément chez les différentes espèces.

- CONDITIONS OPTIMALES POUR LE TITRAGE DU COMPLEMENT -

Comme nous l'avons dit lors de l'étude générale du complément, la fonction n'est pas spécifique ; cependant à chaque espèce correspondent des conditions particulières pour effectuer le dosage de cette activité : deux paramètres interviennent, le système hémolytique, et les conditions physico-chimiques.

1 - Système hémolytique -

Dès le début du siècle, EHRLICH et MORGENROTH (33) observent une différence dans l'activité du complément de diverses espèces selon le système hémolytique en cause. Cela fut confirmé par MUIR (82), qui en conclut que l'efficacité du test d'hémolyse dépend de trois paramètres : la source de complément, la source d'anticorps et la source de globules rouges. Les idées se précisent avec les études de RICE et CROWSON (101) et de RICE et BOULANGER (102) qui mettent en évidence le fait que les compléments de Cheval, de Bovin et de Mouton, qui ne présentent pas de propriétés hémolytiques pour les hématies de Mouton sensibilisées, sont fortement hémolytiques pour les hématies de Lapin sensibilisées. Depuis, un grand nombre d'expériences ont été menées, en vue d'expérimenter les diverses combinaisons possibles. On peut résumer ces études par les Tableaux II et III, d'après GRANT (54) et BARTA (3, 6, 7, 8, 9), les résultats obtenus chez le Cobaye tenant lieu de référence.

Source de complément	Hématies de Mouton			Hématies de Lapin	Hématies de Bovin					Hématies humaines					
	Ac de Lapin	Ac de Souris	Ac de Poule	Ac de Mouton	Ac de Lapin	Ac de Chèvre	Ac de Chat	Ac de Mouton	Ac de Canard	Ac de Lapin	Ac de Cobaye	Ac de Chien	Ac de Chat	Ac de Homme	Ac de Poule
Cheval	-			+ +	-	-	+ +	-	-	-					
Bovin	+ ou -			++ ou +++	-	-	-	-	-	- ou +	+	+	+		-
Mouton	-			+ +	+	+ +	+ +	+	-	+ou++	+	-	-		-
Chèvre					+ou++	+ + +	+ +	+ +	-	+ou+++	+ + +	+ + +	+ +		-
Porc	+ +			+ +	-	-	+ +	-	-	+	+	+ +	+		+
Chien	+ +			+	+ +	+ +	+ +	+	+	+ou++	+ +	+	+		-
Chat	+				+ +	+ +	+ +	-	+ +	+ + +	+ + +	+	+ + +		-
Poule	+		+ +		+ +	+ +	+ +	+	+ +	-	+ +	+	+		+
Canard					+ +	+ +	+ + +	+ +	+ + +						
Cobaye	+ + +	+ + +	-	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	-	+ + +	+ + +	+	+	+ + +	-

+ + + : activité forte + + : activité moyenne + : activité faible blanc : non testé

TABLEAU II : Action du complément des animaux domestiques sur différents systèmes hémolytiques

Système hémolytique \ Complément	Cheval	Bovin	Mouton	Chien	Poule
HEMATIES	Porc	Cobaye	Lapin	Mouton	Porc
ANTICORPS	Lapin	Bovin	Mouton	Lapin	Lapin

TABLEAU III : Systèmes hémolytiques utilisés par RARTA et coll. chez différentes espèces.

Plusieurs conclusions peuvent être faites :

Tout d'abord, tout complément, quelle que soit son espèce d'origine, est hémolytique dans un système donné.

Il n'y a pas de relations phylogéniques marquées entre la source de complément et le système hémolytique le plus approprié, si ce n'est le fait que le complément de Mammifère est plus lytique avec un antisérum de Mammifère, le même phénomène se produisant chez les Oiseaux.

Le complément de Cobaye semble être le plus lytique. L'antisérum utilisé pour sensibiliser les hématies introduit des variations dans les résultats, non seulement selon son origine mais aussi selon la façon dont il est utilisé.

Ainsi les différences minimes observées dans la littérature sont généralement dues à des degrés de sensibilisation des globules rouges différents : une concentration optimale d'antisérum induit une sensibilité maximale de la réaction, alors qu'avec une concentration maximale d'antisérum, les globules rouges sont lysés par des quantités plus faibles de complément.

D'autre part, la présence d'hémolysines naturelles dans cet antisérum peut poser quelques problèmes, en réagissant avec les globules rouges préalablement sensibilisés.

ROSE et ORLANS (106, 107) ont montré que le sérum des Volailles possède des anticorps naturels anti-globules rouges de Mouton. Ces hémolysines naturelles peuvent sensibiliser les hématies dans d'aussi bonnes conditions que les anticorps induits par injection de globules rouges. Ceci a été confirmé par GABRIELSEN (41) qui ajoute que leur titrage n'apporte que peu de renseignements pour effectuer une sensibilisation optimale, les raisons en étant encore imprécises. De même, RICE et BOULANGER (102) mirent en évidence ces hémolysines anti-hématies de Lapin chez le Mouton, le Cheval et le Bovin. Il est donc intéressant de voir si l'absorption de ces hémolysines sur des hématies en présence d'E.D.T.A. entraîne un changement dans le dosage du complément réalisé avec

des hématies préalablement sensibilisées. BARTA (3, 6, 8, 9) a réalisé cette intervention lors de chaque essai pour le dosage du complément chez le Cheval, le Bovin, la Poule et le Mouton. Chez les trois premiers, bien que le titre des hémolysines ait diminué, aucune modification du résultat sur le complément n'a été observé. Par contre, chez le Mouton, le nombre d'UCH 50%/ml est passé de 20 à 16.

D'après GRANT (54), la présence d'anticorps naturels serait un bon indice pour le choix du système hémolytique, mais cela n'est pas confirmé par BARTA qui utilise pour tous ses dosages des hématies d'une espèce envers laquelle le sérum a tester possède le minimum d'anticorps naturels. Ainsi, après une sensibilisation optimale "artificielle", aucun phénomène parasite éventuel ne peut se produire. Ainsi vaut-il mieux choisir un antisérum possédant le minimum d'hémolysines naturelles dirigées contre les hématies utilisées, et l'employer en quantité suffisante (plus d'une UCH 50/ml) pour déceler des taux faibles de complément.

On peut donc doser le complément global grâce à son activité lytique dans tout sérum animal. Il reste à voir quelles sont les conditions physico-chimiques optimales.

2 - Conditions physico-chimiques -

Plusieurs paramètres sont à prendre en considération. Tout d'abord la nature du tampon, déterminée par la force ionique, le pH et la concentration en ions calcium et magnésium. Egalement la température et le temps de réaction. Nous verrons de plus la concentration nécessaire en Na_3 EDTA pour inhiber totalement le phénomène de lyse et l'utilité d'une éventuelle addition de gélatine pour éviter la lyse spontanée des globules rouges.

- Nature du tampon - plusieurs types sont couramment utilisés :
  - BB^- : tampon barbital isotonique de pH 7,3 et de force ionique 0,15. Si l'on y ajoute du chlorure de calcium ($1,5.10^{-4}$M) et du chlorure de magnésium (5.10^{-4}M), on le note BB^+

- GBB : tampon barbital gelatine : on ajoute 0,1% de gélatine à BB
- GGBB : tampon barbital gélatine glucose : il est constitué d'une partie de GBB et d'une partie de glucose à 5%. Sa force ionique est alors de 0,074.
- SBB : tampon saccharose barbital : dans 800 ml d'eau distillée, on dissout 486,1 g de saccharose et 5,095 g de sodium barbital. Le pH est alors ajusté à 7,3 et l'on y rajoute $CaCl_2$ et $MgCl_2$ en quantités requises. Le volume est alors complété à 1000 ml à l'aide d'eau distillée. La force ionique obtenue est de 0,009, et le mélange avec différentes quantités de BB permet d'obtenir diverses forces ioniques.

Pour l'étude du pH, on obtient la valeur désirée en ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl N) ou de soude (NaOH N) au tampon BB.

Dans tous les milieux, le barbital peut être remplacé par le véronal.

- Ions calcium et magnésium : ceux-ci jouent un rôle fondamental dans l'activation du complément. Ainsi de faibles variations de leurs taux peuvent modifier de façon importante les résultats obtenus.

- Température et durée de la réaction : comme nous l'avons vu lors de l'étude générale, ces deux facteurs influent sur le déroulement du phénomène de lyse et donc, sur le dosage.

- Inhibition de la lyse par l'éthylène diamine tétracétate de sodium (Na_3EDTA) : cette substance est un chélateur des cations divalents Ca^{2+} et Mg^{2+} et donc sa présence bloque toute activation. Là encore, la concentration nécessaire varie selon les espèces.

- Effet de la gélatine : l'addition de 0,1% de gélatine au tampon a été recommandée pour réduire la lyse spontanée des globules rouges, d'où l'intérêt du tampon GBB. Nous verrons si ce phénomène est confirmé dans les expériences suivantes.

	BOVIN	CHEVAL	MOUTON	CHIEN	POULET (BARTA)	POULET (GABRIELSEN)	CANARD
pH	7	9	6,5	6,5	7,3 à 8	6,6	
Force ionique	0,094	0,122	0,122	0,065	variable suivant le pH 0,11 à 0,15		0,094
Concentration en Ca^{2+}	3.10^{-4}M	3.10^{-4}M	3.10^{-4}M	3.10^{-4}M	3.10^{-4}M	$6,9.10^{-4}$M	$1,5.10^{-4}$M
Concentration en Mg^{2+}	1.10^{-3}M	1.10^{-3}M	1.10^{-3}M	1.10^{-3}M	1.10^{-3}M	$7,5.10^{-4}$M	1.10^{-3}M
Temps	1 h.	15 min.	90 min.	60 min.	60 à 90 min.	90 min.	90 min.
Température optimale	37°C	37°C	37°C	37°C	30°C		37°C
Effet de la gélatine	rien	rien	rien	rien			
Concentration en Na_3EDTA	0,001 M	0,002 M	0,002 M	0,002 M	0,005 M		
Milieu à utiliser	véronal saccharose	barbital saccharose	barbital saccharose	barbital gélatine-glucose	barbital isotonique		

TABLEAU IV: Conditions physico-chimiques pour le dosage de l'activité globale du complément chez les animaux domestiques.

Les principales études ont été menées par BARTA et coll. (3, 6, 7, 8, 9). De plus, GABRIELSEN (41) a déterminé l'environnement ionique pour le dosage du complément de Poulet, et WIRTZ (122) à étudier le complément de Canard. Les résultats sont indiqués dans le Tableau IV.

Selon les espèces, plusieurs remarques s'imposent :

Le complément de Bovin se dose en utilisant un tampon saccharose barbital (2 parties) complété par le tampon barbital isotonique (3 parties), de façon à obtenir un pH égal à 7 et une force ionique de 0,094. On peut également remarquer que la concentration en Na_3EDTA nécessaire pour inhiber la lyse des globules rouges est, comme pour toutes les espèces étudiées, supérieure à celle nécessaire chez le Cobaye (0,00073 M d'après LEVINE et coll. 78). Il en est de même pour la concentration en ions Ca^{2+} et Mg^{2+}.

Chez le Mouton, la force ionique optimale est plus élevée (0,122), mais surtout le temps nécessaire est très long : après deux heures, l'immunohémolyse n'est pas encore complète, alors que la lyse spontanée devient très importante, ce qui implique de limiter le temps à 90 min. Le milieu utilisé est un tampon barbital avec glucose ou saccharose.

Le complément de Cheval présente plusieurs particularités : il doit être dosé à pH 9 (un pH supérieur entraîne une augmentation de la lyse spontanée) et le temps nécessaire est très courts (15 min.) De plus, une température d'incubation supérieure à 37°C ne diminue pas le titre obtenu, ceci étant sans doute dû au fait que la vitesse de réaction est très grande. Le tampon utilisé est similaire à celui employé chez le Mouton.

Chez le Chien, on peut utiliser, soit un tampon barbital avec saccharose, soit un tampon barbital gélatine-glucose. Aucune particularité n'est à souligner.

Plusieurs études ont été menées chez les volailles : d'après les travaux de BARTA et BARTA (9), le pH optimal serait situé aux environs de 8, et la force ionique serait très forte (0,15).

Ces deux caractères seraient de plus liés, à l'abaissement du pH à 6,6 entraînant une force ionique optimale de 0,07. Par contre, GABRIELSEN (41) affirme que le pH optimal se situe aux environs de 6,6 avec une force ionique très faible (0,01). La différence semble due en grande partie aux cellules cibles utilisées : BARTA emploie des globules rouges de Porc sensibilisés par des anticorps de Lapin (on peut d'ailleurs noter que chez le Cheval, où l'on utilise également des hématies de Porc, le pH optimal est également élevé) alors que GABRIELSEN (41) utilise des globules rouges de Lapin sensibilisés par des anticorps de Poulet. Mais BARTA a également employé des hématies de Lapin, et la force ionique optimale observée se situe entre 0,07 et 0,11 selon le pH. Donc le milieu à utiliser semble être le tampon barbital isotonique. De même, les résultats concernant les concentrations nécessaires en ions Ca^{2+} et Mg^{2+} diffèrent selon le protocole utilisé : BARTA étudie les deux facteurs simultanément, alors que GABRIELSEN les observe séparément.

La température optimale est seulement de 30°C, ce qui est surprenant, compte tenu du fait que la température interne des Oiseaux est supérieure à celle des Mammifères.

La forte concentration en Na_3EDTA nécessaire pour inhiber totalement la lyse est à rapprocher de la forte valeur de la calcémie chez les Oiseaux (de 13,2 à 23,7 mg/100 ml). Enfin, GABRIELSEN a étudié l'effet d'autres cations divalents :

- Pb^{2+}, Cu^{2+}, Hg^{2+} : effet destructeur sur les cellules.
- Zn^{2+} : effet inhibiteur
- Co^{2+} : effet procomplémentaire (effet similaire à Mg^{2+})
- Ba^{2+} : effet procomplémentaire (effet similaire à Ca^{2+})
- Fe^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+} : aucun effet.

Le complément de Canard, étudié par WIRTZ (122) ne montre pas de particularités par rapport à celui des Gallinacés.

Donc, à chaque dosage correspondent des particularités bien définies, liées aussi bien au système hémolytique choisi qu'à la nature même du complément, dont le support protéique varie selon les espèces. De nombreuses expérimentations ont été faites, pour évaluer le taux global du complément lytique chez les animaux. Voyons quels en sont les résultats.

BOVINS :	hématies de Lapin	195,8 ± 24	(100)
		156	(102)
		10 → 150	(103)
		10 → 30	(18, 89, 105)
		0 → 250	(71)
	hématies de Mouton	0 → 10	(10, 12, 102)
		60	(117)
	hématies de Cobaye	24 → 256	(3)
		60 → 500	(5)
CHEVAL :	hématies de Lapin	25	(102)
	hématies de Mouton	0 → 10	(12, 101, 102)
	hématies de Porc	8 → 32	(6)
MOUTON :	hématies de Lapin	16 → 64	(8)
		10 → 20	(104)
		31	(102)
		100 → 160	(103)
	hématies de Mouton	0 → 10	(12, 101, 102, 117)
CHEVRE :	hématies de Mouton	0	(12)
CHIEN :	hématies de Mouton	32 → 96	(7)
		50 → 60	(39)
		16 → 42	(110)
		75 → 111	(79)
		300	(12, 117)
CHAT :	hématies de Mouton	22 → 68	(73)
		50	(12)
		60	(117)
PORC :	hématies de Lapin	40	(102)
	hématies de Mouton	50	(12)
		100	(69, 29)
		12 → 35	(116)
		116 → 138	(115)
		92	(102)
POULE :	hématies de Lapin	350 → 700	(43)
		300 → 400	(42)
	hématies de Mouton	20	(12)
		17 → 50	(107)
		40	(117)
		180 → 290	(21)
	hématies de Porc	32 → 80	(9)
CANARD :	hématies de Mouton	300	(122)

TABLEAU V : Taux de complément sérique chez les animaux domestiques (en UCH 50/ml)

- RESULTATS -

Le tableau V fournit les résultats recueillis dans la littérature, en indiquant quelles hématies ont été utilisées. En effet, les variations de ce paramètre induisent les plus grandes différences dans les résultats.

A la vue de ces données, deux points sont importants :

- il est nécessaire de standardiser toutes les conditions expérimentales en vue d'obtenir des résultats comparables entre eux. Le système hémolytique classique (hématies de Mouton et anticorps de Lapin) ne peut être généralisé. Pour chaque espèce, un protocole à suivre doit être mis en place. D'autres méthodes de dosage du complément ont été essayés : test d'immobilisation des Treponèmes (83), dosage du complément conglutinant (4, 5). Mais ces dernières sont, ou plus difficiles à réaliser, ou non généralisables. Mieux vaut donc garder le principe du dosage du complément lytique en l'adaptant aux différentes espèces.

- Malgré tout, le taux de complément lytique, pour une même espèce, présente de grandes variations : tout d'abord l'âge joue un rôle primordial (5). Le sexe ne semble pas intervenir. La race, par contre, induit des modifications importantes (71). Mais surtout, on trouve de grandes variations individuelles qui rendent difficile l'appréciation d'un résultat brut.

Le complément est constitué d'un ensemble de fractions, très bien connues chez l'homme. Mais chez les animaux domestiques, les connaissances semblent moins précises, comme nous allons le voir.

III - MISE EN ÉVIDENCE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS DU COMPLÉMENT -

La mise en évidence des différentes fractions du complément chez les animaux domestiques a suivi les découvertes réalisées chez le Cobaye et chez l'homme. Ainsi peut-on discerner deux grandes étapes : jusqu'aux années 1968-1969, on ne distinguait que quatre composants : C_1, C_2, C_3 et C_4. Puis on se rendit compte que C_3 était en fait composé de sous-unités : C_3, C_5, C_6, C_7, C_8 et C_9. Différentes études ont été menées en vue de doser, de séparer ces fractions, et

d'en étudier leur interchangeabilité spécifique.

Cette propriété caractérise la possibilité de remplacement mutuel de deux fractions de même type (par exemple C_1) mais appartenant à deux espèces différents (par exemple le Cheval et le Cobaye) au sein de la cascade d'activation du complément. Les deux fractions sont interchangeables si l'on peut indifféremment utiliser l'une ou l'autre pour réaliser la réaction d'immunohémolyse. L'intérêt de connaître ces caractéristiques est double : tout d'abord, deux fractions interchangeables possèdent très certainement de grandes similitudes physico-chimiques. Ainsi, une fraction inconnue comparée à une fraction connue peut être explorée du point de vue physico-chimique. D'autre part, une bonne interchangeabilité entre les fractions du complément d'une espèce et celles du Cobaye ou de l'homme facilite la réalisation des dosages, car ceux-ci utilisent souvent des fractions purifiées du commerce ayant pour origine le sérum de Cobaye ou le sérum humain.

- METHODES -

Il existe deux types d'études : le dosage à partir du sérum et le fractionnement en vue d'obtenir les composants à l'état pur.

1 - Méthodes de dosage -

Plusieurs méthodes ont été successivement utilisées au cours du temps. Les deux premières sont fondées sur la réaction d'hémolyse et la troisième est une réaction d'immunodiffusion.

a) - Les réactifs R -

Se fondant sur le postulat suivant lequel le titre hémolytique d'un sérum dépend du composant présent en plus faible quantité, HEGEDUS et GRENER, en 1938 (60) dosèrent les fractions du complément en utilisant des hématies sensibilisées en présence de réactifs contenant toutes les fractions, sauf celle à doser, qui devenait ainsi le facteur limitant. Quatre réactifs R furent ainsi fabriqués, le chiffre adjoint correspondant à la fraction à doser grâce à ce produit :

C_1	C_4	C_2	C_3	C_5
Sérum à tester 1	Sérum 1	Sérum 1	Sérum 1	Sérum 1
EAC_4 30°C,20mn 1	EAC_1 30°C, 20mn 1	EAC_{14} 30°C t.max. 1	$C_5C_6C_7$ 1	$C_3C_6C_7$ 1
C_2 30°C, 10mn 1	C_2 30°C, 10mn 1	0,04M EDTA GBB 2	C_2 1	C_2 1
0,04M EDTA GBB 1	0,04M EDTA GBB 1	C.EDTA 37°C 60mn 1	EAC_{14} 30°C 30mn 1	EAC_{14} 30°C 30mn 1
C.EDTA 37°C 60mn 1	C.EDTA 37°C 60mn 1		C_8C_9 37°C, 60mn 1	C_8C_9 37°C 60mn 1

C_6	C_7	C_8	C_9	C_1 INH
Sérum 1	Sérum 1	Sérum 1	Sérum 1	Sérum 1
$C_3C_5C_7$ 1	$C_3C_5C_6$ 1	C_9 1	C_8 1	C_1 hu 10 U/ml 30°C,60mn 1
C_2 1	C_2 1	$EAC_{1.7}$ 1	$EAC_{1.7}$ 1	EAC_4 30°C,20mn 1
EAC_{14} 30°C,30mn 1	EAC_{14} 30°C,30mn 1	GGBB 37°C,45mn 2	GGBB 37°C, 45mn 2	C_2 30°C,20mn 1
C_8C_9 37°C,60mn 1	C_8C_9 37°C,60mn 1			0,01M EDTA 30°C, 2mn 1
				C EDTA 37°C,60mn 1

TABLEAU VI : Dosage des fractions du complément à l'aide de la méthode stoechiométrique selon BARTA et HUBBERT (12)

- R_1 : pseudoglobulines solubles après dialyse contre une solution de faible force ionique (contenant C_2 et C_4) et sérum traité par la chaleur, c'est à dire à 56°C pendant 30 mn (contenant C_3 et C_4)
- R_2 : euglobulines précipitées après dialyse (contenant C_1 et C_2) et sérum traité par la chaleur
- R_3 : sérum traité par le zymosan, ce qui entraîne une consommation de C_3
- R_4 : sérum traité par l'hydroxyde d'ammonium dilué, qui détruit C_4

Ces réactifs furent très employés : on leur ajoutait le sérum à tester et le pourcentage de lyse était fonction de la fraction à doser. Mais on peut leur reprocher leur manque de spécificité et de sensibilité, ce qui induit des erreurs dans les valeurs obtenues. Ils furent ainsi progressivement abandonnés.

b) - Méthode stoechiométrique -

Elle utilise une suspension d'intermédiaires cellulaires comprenant des hématies sensibilisées que l'on fait préalablement réagir avec la ou les fractions du complément intervenant avant la fraction à doser. Un volume constant de cette suspension est mélangé au sérum à tester, ce qui entraîne la formation de nouveaux intermédiaires en quantité proportionnelle à la fraction à doser. Puis on rajoute une ou plusieurs solutions des fractions intervenant après la fraction à doser pour aboutir au phénomène de lyse. En général, le résultat est exprimé en UCH 50/ml du composant déterminé.

C'est la méthode qui de nos jours est la plus employée. On peut ainsi déterminer le protocole pour chaque fraction, comme l'ont fait BARTA et HUBBERT (12) (Tableau VI). Par exemple, pour doser C_1, on mélange un volume du sérum à tester et un volume de l'intermédiaire cellulaire EAC_4. Le tout est laissé 20 min. à 30°C. Puis on rajoute un volume d'une préparation purifié de C_2 qu'on laisse agir 10 min. à 30°C. Enfin, on ajoute un volume d'un mélange milieu GBB-EDTA à la concentration de 0,04M et un volume de complément de Cobaye traité par l'EDTA. L'ensemble est placé à 37°C pendant

60 min. Les auteurs ont pris, comme volume élémentaire, la valeur de 0,025 ml. Tous les composants utilisés sont ajoutés à la concentration de 100 UCH 50 par volume élémentaire. Si plusieurs composants sont ajoutés ensemble, la concentration est de 100 UCH 50 pour chaque composant.

Les intermédiaires cellulaires et les fractions purifiées fournies dans le commerce ont pour origine l'homme ou le Cobaye, ce qui peut d'ailleurs entraîner des problèmes lors du dosage de certains composants chez quelques espèces, comme nous le verrons par la suite.

c) - Immunodiffusion radiale de Mancini -

Si l'on dépose un antigène dans un puit creusé dans une gélose contenant un antisérum homologue, l'augmentation de la surface de l'anneau de précipitation est d'abord fonction du temps. Puis, après un certain délai, la zone d'équivalence est atteinte, et au point final de diffusion, cette surface est directement proportionnelle à la concentration de l'antigène. On peut ainsi, grâce à des réactifs commercialisés, doser chez l'homme C_1, C_3, C_4, C_5, C_1sINH, C_3INH et la properdine. Chez les animaux, on peut obtenir des antisérums en injectant des fractions purifiées à un Lapin. Cette méthode a été utilisée par TIMONEY (115) pour doser C_3 et pour NIELSEN et coll. (89) pour doser C_1q, C_1, C_3 et C_8.

Mais cette méthode repose uniquement sur les caractéristiques d'antigénécité des fractions, et pas sur les caractères hémolytiques. Ainsi elle ne permet pas de savoir si ces fractions sont fonctionnellement actives. C'est là son inconvénient majeur, mais, chez l'homme, grâce à l'emploi des réactifs commercialisés, c'est une méthode de réalisation simple utilisable en pratique courante. Chez les animaux domestiques, la méthode de choix reste donc la méthode stoechiométrique. Mais comment séparer ces différentes fractions?

2 - Méthodes de fractionnement -

Là aussi, les techniques ont évolué dans le temps. On a tout d'abord utilisé la précipitation, accompagnée de centrifugation, puis la chromatographie.

a) - Réaction de précipitation -

Ce principe a été utilisé par JONSEN et coll. (69) chez le Porc : à l'aide de sulfate d'ammonium ou d'alcool, il parvient à préparer des solutions de C_1 et de C_3. LEON et coll. (76) reprennent cette méthode en utilisant des tampons acétate alcoolés, et obtiennent deux mélanges de fractions bien déterminées.

Mais le degré de purification reste malgré tout moyen, et le protocole à suivre est complexe, car il comporte de nombreuses étapes. Cette méthode persiste pour l'obtention de C_1 : après précipitation à faible molarité (0,03M) et centrifugation, le précipité lavé et redissous représente une bonne source de C_1 (10, 111). De même, le C_1 de Chat peut être préparé par précipitation à l'aide de sulfate d'ammonium (90).

Mais pour toutes les autres fractions, la chromatographie a remplacé la précipitation ou s'y est associée.

b) - Chromatographie -

Les méthodes chromatographiques sur colonne permettant de séparer des protéines sont fondées sur l'emploi de gels comme phase stationnaire. Ces gels sont constitués d'une trame macro-moléculaire délimitant des mailles de dimensions déterminées et parfaitement régulières. Les protéines dont les dimensions sont supérieures à celles des mailles ne peuvent y pénétrer : elles sont exclues du gel et migrent à même vitesse que la phase mobile. Par contre, les protéines dont les dimensions sont inférieures à celles des mailles peuvent y pénétrer : elles s'équilibrent alors entre le gel et la phase mobile, les équilibres étant régis par des phénomènes de diffusion et caractérisés par des constantes de diffusion K. D'où le nom, pour ces méthodes,de chromatographie de filtration sur gel, ou de perméation sur gel, ou encore d'exclusion-diffusion. Le Séphadex G 200 le Biogel HT ont été utilisés par BORSOS et RAPP (16) et SARGENT et coll. (111). On peut associer au phénomène d'exclusion-diffusion un phénomène d'échange d'ions. Dans ce but, sont greffés sur les gels des groupements échangeurs d'anions ou de cations. Les protéines pouvant pénétrer à l'intérieur des mailles du gel y sont plus ou moins retenues en fonction de l'affinité plus ou moins grande de l'échangeur d'ions pour la protéine. Ont été en particulier utilisés

des échangeurs d'anions, DEAE cellulose par BARTA et coll. (10) et DE 52 cellulose par SARGENT et coll. (111), ainsi qu'un échangeur de cations, la CM cellulose, par SARGENT et coll. (111).

Après avoir étudié les différentes méthodes, voyons quels en sont les résultats.

- RESULTATS -

Le dosage des différents composants, première étape avant le fractionnement, a donc été pratiqué plus tôt. A celui-ci ont été associées les études sur l'interchangeabilité des composants, études d'ailleurs nécessaires pour obtenir une fiabilité satisfaisante des réactions. Les résultats des isolements de bonne qualité ne sont apparus que récemment.

1 - Dosage -

De nombreux essais ont été faits, soit à l'aide des réactifs R, soit par la méthode stoechiométrique selon l'époque.

RICE et CROWSON en 1950 (101) démontrèrent que les compléments non hémolytiques dans le système traditionnel (hématies de Mouton et anticorps de Lapin) possédaient une fraction C_1, mais que le C_4, le C_2 ou les deux étaient peu ou pas dosables. Les titres de C_3 étaient également très bas chez le Cheval et le Mouton (à cette époque, le C_3 n'avait pas été séparé en plusieurs fractions). De plus, chez ces mêmes espèces, la "pièce moyenne", ou C_1, présentait de bonnes conditions d'interchangeabilité avec le C_1 de Cobaye, contrairement à la pièce terminale ou C_2.

RICE et BOULANGER (102), deux ans plus tard, changèrent le système hémolytique (hématies de Lapin et anticorps de Mouton) et mirent en évidence les quatre fractions connues chez les espèces dont les compléments étaient dits non hémolytiques. Ils ajoutèrent que la fraction C_4 du Cobaye ne pouvait remplacer son homologue que chez les Bovins et les Ovins, et que les C_3 bovin et équin étaient interchangeables seulement chez les espèces dont le complément lyse les hématies de Lapin et non celles de Mouton.

Ces premières études ont été complétées à l'aide des intermédiaires cellulaires plus sensibles et les résultats sont résumés dans le Tableau VII.

On peut noter tout de suite la grande variabilité des résultats. Ceci est dû aux différentes sources de fractions utilisées par les laboratoires ainsi qu'aux techniques variant dans leurs détails (temps d'incubation, température...). Ainsi les comparaisons semblent difficiles à établir. Il y a peut-être de plus une grande variabilité individuelle, qui rend l'interprétation délicate. Néanmoins, plusieurs remarques peuvent être faites, notamment sur l'étude très complète de BARTA et HUBBERT (12).

La fraction C_1, mise en évidence chez toutes les espèces, semble donc toujours compatible avec les hématies de Mouton sensibilisées par les anticorps de Lapin. Le titre de 300 obtenu chez les Volailles indique cependant une compatibilité moins bonne, soit avec les anticorps de Mammifères, soit avec le C_4 humain, ou encore avec les deux. Ceci infirme tout de même les travaux de ROSE et ORLANS (106, 107).

Les fractions C_4 et C_2 n'ont pas été détectées chez les Bovins, les Ovins, les Caprins, et le Cheval. Ces résultats sont explicables par le fait que ce sont les fractions les plus spécifiques, et donc très difficilement dosables à l'aide des intermédiaires cellulaires du commerce. SARGENT et coll. (110) l'ont d'ailleurs confirmé chez le Chien pour les dosages de C_4 et C_2 : un intermédiaire cellulaire préparé à partir de fractions d'origine canine est plus efficace que son homologue préparé à partir du sérum de Cobaye. Mais les études de FONG et coll. (37, 38) chez les Bovins et de LEON et NORDEN (77) chez le Cheval mirent en évidence la formation d'intermédiaires lytiques, aboutissant à la lyse des hématies en présence de complément de Cobaye traité par l'EDTA. Ceci prouve donc l'existence des trois premiers composants de la voie classique chez ces espèces, ce qui confirme les travaux de RICE et BOULANGER (102). Un système hémolytique plus approprié pourrait sans doute permettre leurs dosages.

Chez ces mêmes espèces, la fraction C_3 est décelée à des taux très faibles, ou même est indétectable, ce qui indique une incompatibilité avec la C_3 convertase ($C_{\overline{42}}$) d'origine humaine. Mais son existence n'est pas remise en question (elle a d'ailleurs été

	C_1	C_4	C_2	C_3	C_5	C_6	C_7	C_8	C_9	C_1INH	Références
BOVIN	16.000 5.000 14.000	ND ND 5	ND ND 3	ND 50	300 50	50.000 2.400	40.000 270	2.000 3.200	16.000 2.400	100	(12) (10) (16)
CHEVAL	16.000 10.000→ →30.000	ND 10	10 20	10	ND	27.000	25.000	6.000	4.000	200	(12) (16)
MOUTON	1.600 13.000→ →50.000 4.000→ →7.000	ND 30	ND 25	10	ND	33.000	21.000	1.000	20.000	240	(12) (24) (16)
CHEVRE	3.200 10.000	10 10	ND 10	15	10	50.000	20.000	32.000	20.000	240	(12) (16)
PORC	40.000 2.000→ →3.000 750 60.000	250 200 → →3.000 150 300	2.000 100 → →200 75 1.800	3.200 150	800 180	6.400 320	40.000 310	32.000 12.500	14.000 5.900	ND	(12) (69) H100% (76) H100% (47) (29)
CHIEN	20.000 300 75.000→ →123.000 10.000	4.000 370 70.000→ 228.000 100 200	1.600 120 160→ →250 50	8.000	1.600	40.000	55.000	64.000	16.000	ND	(12) (39) (110) (16)
CHAT	10.000 12.000	16.000 25.000	3.200 2.000	1.600 5.000	1.600 200.000	25.000 25.000	40.000 150.000	64.000 2.000	16.000 20.000	ND	(12) (85)
POULE	300 3.000→ →4.000 1.500→ →26.000	100	ND	100	60	2.500	250	2.000	1.000	ND	(12) (42) (45)

TABLEAU VII : Taux des différentes fractions du complément dans le sérum des animaux domestiques (en UCH 50/ml sauf si notation H 100% indiquant UCH 100/ml, ND = non détecté.)

isolée chez les Bovins.)

Le taux de C_5 semble également très variable selon les espèces, pour les mêmes raisons.

Les dernières fractions, de C_6 à C_8, sont présentes chez toutes les espèces et une bonne interchangeabilité semble exister entre elles.

Le C_1INH, mis en évidence à l'aide du C_1 humain, n'a été révélé que chez les espèces dont le complément ne lyse pas les hématies de Mouton.

En conclusion, la méthode de BARTA et HUBBERT (12) semble très bonne pour les dosages des fractions du complément chez le Chien, le Chat et le Porc. Chez les Bovins, les Ovins, les Caprins et le Cheval, un meilleur système hémolytique donnerait sans doute des résultats, notamment pour C_4 et C_2. Enfin, une méthode plus sensible et plus spécifique est nécessaire pour les Volailles ; GABRIELSEN (43) a d'ailleurs montré que les taux les plus élevés de C_1 étaient mis en évidence à l'aide des hématies sensibilisées par des anticorps de Volaille. Surtout il importe d'utiliser toujours les mêmes produits chez une espèce pour obtenir des résultats reproductibles et fiables.

Si les expériences de dosage des fractions ont été assez nombreuses, il n'en est pas de même pour le fractionnement.

2 - Fractionnement -

Seuls deux auteurs ont réalisé un isolement réel de plusieurs fractions du complément à partir du sérum : BARTA et coll. (10) chez les Bovins, SARGENT et coll. (111) chez le Chien.

La fraction C_1 est isolée de la même façon dans les deux cas : c'est une précipitation à l'aide d'un tampon de faible molarité (0,003 ou 0,004M de NaCl).

Fraction	Concentration saline relative de l'éluent en moles
C_1	0,12
C_5	0,10
C_6	0,09
C_7	0,06
C_8	0,035 - 0,06
C_9	0,11
C_3INH	0,10

TABLEAU VIII

Pics d'élution des fractions du complément sur DEAE cellulose à pH 7,5 chez les Bovins

Fraction	Protocole de purification	E L U T I O N D E		
		DE52 pH 7,5 mS	CM52 pH 5,5 mS	HA pH 8,0 mS
C_1	précipitation par englobulines			
C_2	3,0M $(NH_4)_2SO_4$ - G25 pour dé-salage - DE52 électrophorèse sur acry-lamide agarose	<7	inactivé ou fixé	
C_3	DE52 - HA - CM52	6-8,5	8,2-12,2	12,2-14
C_5	précipitation à pH 5,5 DE52 - HA	6-8,5	8,2-12,2	13,6-14,6
C_6	DE52 - HA - DE52 - G200 DE52	6,2-8,5	inactivité au pH optimum pour CM	12,7-13,6
C_7	DE52 - DE52 - CM52	<7 après C_2	9,8-12,8	12,8-14,9
(C_8)	DE52	$>6,8$		
(C_9)	DE52 très labile	$<18,5$		
C_4	DE52 - CM52	13,6-18,2	11-12,7	

TABLEAU IX : Caractéristiques chromatographiques des fractions du complément sur colonnes à échange d'ions chez le Chien

Par la suite, leurs méthodes varient : BARTA et coll. (10) utilisent la chromatographie seule, alors que SARGENT et coll. (111) y associent la précipitation par le sulfate d'ammonium. Cette seconde méthode est donc beaucoup plus complexe. Les résultats sont indiqués dans les Tableaux VIII et IX. Chez les Bovins, six composants et un inactivateur sont isolés (Tableau VIII) : C_1, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9 et C_3INH. C_2 et C_4 n'ont pas pu être mis en évidence dans l'effluent en raison de l'incompatibilité avec les intermédiaires cellulaires utilisés. Pour expliquer l'absence de C_3, plusieurs hypothèses peuvent être émises. C_3 est incompatible avec la C_3 convertase ou avec C_5 présents dans les intermédiaires cellulaires utilisés, ou bien encore est élué avec le C_3INH très puissant qui inhibe son activité.

Chez le Chien (Tableau IX), les sept premiers composants, de C_1 à C_7, ont été isolés. C_9 semble trop labile pour pouvoir être obtenu de façon stable, et C_8, pratiquement omniprésent dans les différents effluents, ne peut être obtenu avec un degré de pureté suffisant.

Ces résultats, qui peuvent sembler appartenir au domaine fondamental, ont un intérêt pratique dans deux domaines : d'une part, la chromatographie permet d'évaluer le poids moléculaire du ou des produits obtenus, comme l'ont fait BORSOS et RAPP (16), et de mieux préciser les différences entre les mêmes fractions chez les diverses espèces, ce qui peut expliquer les problèmes d'interchangeabilité. D'autre part, à l'aide d'une préparation de fraction purifiée, on peut immuniser par exemple un Lapin et obtenir un immunsérum, ouvrant ainsi la voie au dosage des fractions par la méthode d'immunodiffusion radiale de Mancini.

Donc les différentes études, plus ou moins précises puisqu'elles vont de la mise en évidence d'une β_1 globuline assimilée à une fraction du complément chez le Mouton (67) jusqu'à la révélation de la structure primaire complète de C_3a chez le Porc (28), ont permis d'obtenir des données encore fragmentaires sur ce chapitre. Mais il reste aussi un point à éclaircir : quel est le mécanisme intime d'action du complément chez les animaux domestiques ?

IV - MÉCANISME D'ACTION -

Toutes les recherches menées chez les animaux domestiques ont été calquées sur celles réalisées chez l'homme. C'est ainsi que l'on est arrivé à la mise en évidence des neuf fractions du complément, et que l'on a admis que les voies d'activation étaient les mêmes, suivant exactement le même déroulement.

Les travaux de FONG et coll. (37, 38) ont mis en évidence la formation d'un intermédiaire lytique EAC_{142} constitué d'hématies de Mouton et de complément de Bovin. Cela permet d'ailleurs d'affirmer l'existence des premiers composants de la voie classique chez les Bovins, et cela prouve l'absence d'incompatibilité entre ces composants et les globules rouges de Mouton. En effet, certains auteurs avaient pensé qu'une telle incompatibilité pouvait expliquer les résultats négatifs obtenus lors du dosage du complément de Bovin à l'aide d'hématies de Mouton.

D'autre part, les composants terminaux du complément de Cobaye sont également compatibles avec les premiers composants du complément de Bovin car, étant utilisés pour révéler l'existence de cet intermédiaire lytique, ils conduisent au phénomène d'immunohémolyse. Cette étude montre également que les phénomènes découverts *in vitro* ne correspondent pas toujours à la réalité *in vivo*, car même si la réaction d'activation ne se déroule pas jusqu'à aboutir à la lyse des hématies, la libération de produits actifs (C_2b et C_4a) se produit tout de même. PANG et ASTON (92) ont révélé l'importance de C_1 au sein de EAC_{142} qui, non seulement joue un rôle structural, mais intervient également dans la capacité à réagir avec les fractions terminales du complément de Cobaye, et ceci par son site estérasique, mais selon un mécanisme inconnu. De même, la formation d'un intermédiaire lytique a été mise en évidence par LEON et NORDEN (77) avec du complément de Cheval, sur des hématies de Mouton. Seules les cinétiques de formation et de dégradation de ces intermédiaires présentent des différences avec celles de l'homme ou du Cobaye (en fonction de la température, de la force ionique, ou du pH), mais le principe de base en est identique.

La voie alterne n'a pas été étudiée en détail ; elle a seulement été mise en évidence chez les Bovins (93), le Porc (47) et le Chien (27).

Les récepteurs cellulaires des fractions du complément (C_3b principalement) ont été découverts sur les monocytes de Bovin (108), les granulocytes neutrophiles et les monocytes de Cheval (2), les lymphocytes B et T (17, 114) et les plaquettes (26) du Chien et du Chat.

Le phénomène de conglutination, dû aussi bien à la conglutinine qu'aux immunoconglutinines, a été étudié ches les Bovins chez qui d'ailleurs la conglutinine a été pour la première fois isolée, mais uniquement dans un but de dosage du complément et d'étude ontogénique (4, 5, 11). Le mécanisme d'action semble similaire à celui découvert chez l'homme.

Nous voyons donc que les études fondamentales sur le mode d'action du complément chez les animaux domestiques sont très peu nombreuses et n'apportent aucun élément essentiel ou particulier à une espèce. Ainsi il reste beaucoup de choses à découvrir, ou tout du moins à mettre en évidence.

Ainsi l'étude analytique du complément des animaux domestiques, encore incomplète, nous permet cependant d'aborder le vaste chapitre des applications.

DEUXIÈME PARTIE

APPLICATIONS

Trois grands courants ont guidé les recherches effectuées : l'étude de la phylogénie et surtout de l'ontogénie, le rôle dans les défenses de l'organisme et l'importance en pathologie. Certes, les résultats actuels, encore trop peu nombreux, ne permettent pas de tout comprendre ou de tout expliquer, mais ils constituent une mosaïque pouvant servir de base aux découvertes ultérieures.

I - PHYLOGÉNIE ET ONTOGÉNIE -

Les moyens de défense immunologiques ont été étudiés chez les espèces inférieures afin de voir l'évolution et la complexité croissante des mécanismes mis en jeu. Il en est de même pour le complément, bien que les travaux soient fort peu nombreux. L'ontogénie, par contre, a beaucoup attiré les auteurs, sans doute parce qu'elle est d'un accès plus facile, mais aussi parce qu'elle présente un intérêt pratique plus important.

- PHYLOGENIE -

Ainsi qu'il a été dit plus haut, la mise en évidence du complément chez les diverses espèces est difficile, en raison du choix du système hémolytique à utiliser. Néanmoins, certains auteurs l'ont recherché chez les Invertébrés et surtout chez les Vertébrés.

1 - Embranchement des Invertébrés -

Les études ont porté sur trois espèces : un Arthropode, la Limule (*Limulus polyphemus*), un Sipunculoïdea, appartenant aux Annelides (*Goldfingea sp.*) et un Echinoderme, l'étoile de mer (*Asterius forbesi*).

1 -

Cofacteur sérique
(voisin de I.F.)
= hémolymphe

Venin de cobra : CovF

composants terminaux = sérum de Grenouille

Etoile de mer (Asterius forbesi)

2 -

Cofacteur sérique
(voisin de I.F.)
= hémolymphe

venin de cobra = CovF

composants terminaux = hémolymphe (incompatibles avec le complexe CovF - cofacteur sérique de Grenouille)

Annelide (Goldfingea sp.)

3 -

Cofacteur sérique
(voisin de I.F.)
= hémolymphe

venin de cobra : CovF

composants terminaux = hémolymphe (compatibles avec le complexe CovF - cofacteur sérique de Grenouille.

Limule (Limulus polyphemus)

Figure 10 : Représentation sous forme de schémas des systèmes "type-complément" décrits chez les Invertébrés.

Aucune activité lytique n'a été mise en évidence dans l'hémolymphe, par les méthodes classiques. Néanmoins, d'après DAY et coll. (31), une lyse induite par le venin de Cobra est observée chez la Limule et l'Annelide, mais pas chez l'Etoile de mer. GIGLI et AUSTEN (49) décomposent alors la réaction en deux étapes : formation d'un complexe venin de Cobra - cofacteur de l'hémolymphe, puis lyse d'hématies à l'aide de composants terminaux (de C_3 à C_9) rajoutés au milieu. Ainsi, les complexes "venin de Cobra - Limule" et "venin de Cobra - Etoile de mer" induisent la lyse de globules rouges de Mouton en présence de sérum de Grenouille traité par l'EDTA. De plus, le complexe "venin de Cobra - sérum de Grenouille" provoque la lyse de ces hématies avec l'hémolymphe de Limule comme source de composants terminaux, mais pas avec l'hémolymphe de l'Annelide. Deux aspects sont intéressants : d'une part, un cofacteur sérique sans doute voisin de l'initiating factor (I.F.) et les fractions terminales sont présentes chez la Limule et l'Annelide, alors que seul le cofacteur existe chez l'Etoile de mer. D'autre part, les composants terminaux de l'hémolymphe de Limule réagissent avec le complexe "venin de Cobra - sérum de Grenouille", contrairement à ceux de l'Annelide.

En conclusion, le système lytique reconnu chez les Invertébrés est encore très éloigné du complément décrit chez les Mammifères.

2 - Embranchement des Vertébrés -

a) - Classe des Agnathes -

La Lamproie marine (Petromyzon marinus) , un Cyclostome, est la première espèce capable de fabriquer des anticorps : les IgM. On y a découvert la présence d'une agglutinine et d'une hémolysine thermostable, très partiellement sensible à l'EDTA. Cette dernière gêne considérablement la mise en évidence d'un autre système hémolytique, et ainsi, aucun mécanisme semblable au complément n'a pu être révélé.

	Agnathes	Chondrichtyens	Osteïchtyens	Amphibiens	Reptiles
Hemolysines anti-globules rouges de	Lapin Mouton	Poisson-Tortue-Poule-Lapin-Mouton	Poisson-Tortue Lapin-Mouton Chien	Poisson-Tortue Canard-Lapin-Chien Mouton-Homme	Mouton Homme
Température optimale de lyse	4°C	25°-30°C	4°-28°C	4°-28°C	15°-37°C
Potentialisation par les anticorps de	0	Requin-Tortue	variable	Lapin-Tortue	Lapin-Serpent
Stabilité à la chaleur	stable 2h30 53°C	labile 20 mn 48°C	labile 15 mn 53°C	labile 20mn 48°C	labile 6mn 56°C
Action de EDTA (chelateur de Ca^{2+} et Mg^{2+})	±	+	+	+	+
Restauration par Ca^{2+} et Mg^{2+}		-	+	+	+
Composants isolés	0	C_1 C_4 C_2 C_3^+ C_9 inactivateur de C_4	C_1 C_4 C_2 C_3^+	C_1 C_4 C_2 C_3^+ cofacteur sérique	cofacteur sérique

TABLEAU X : Propriétés du complément chez les espèces inférieures d'après GIGLI et AUSTEN (49)

+ mise en évidence par reconstitution de sérums traités par la chaleur (déficients en C_1 et C_2) et traités à l'hydrazine (déficients en C_3 et C_4)

b) - Classe des Chondrichtyens -

Les Requins (Negapérion brevirostis et Ginglystoma cirrutum-) considérés comme primitifs en raison de leur squelette cartilagineux, présentent une activité lytique très marquée vis à vis de globules rouges non spécifiquement sensibilisés de plusieurs espèces. Le fait que cette hémolyse soit variable selon l'origine des globules rouges a fait penser à une activité complément-dépendante. Cela a alors été confirmé par l'expérience suivante : les anticorps du sérum de Requin ayant été adsorbés par incubation sur un stroma d'hématies, ce sérum ne représente plus qu'une source de complément, et ne possède plus par lui-même d'activité hémolytique. Mais, par contre, il provoque l'hémolyse de globules rouges de Mouton, sensibilisés, soit par du sérum de Requin traité par la chaleur, soit par des hémolysines partiellement purifiées de Requin, avec un titre plus élevé dans ce second cas. Cela suggère donc la présence de complément, les hémolysines jouant le rôle d'anticorps sensibilisants.

En fait, ces hémolysines jouent peut-être un rôle plus réduit qu'il n'y paraît, car le traitement préalable du sérum par le venin de Cobra réduit son activité hémolytique de 95%, suggérant ainsi une grande importance de la voie alterne.

Quoi qu'il en soit, cette activité est très thermolabile et sensible à l'EDTA.

En plus des premiers composants mis en évidence par reconstitution de sérum traités par la chaleur (déficients en C_1 et C_2) et traités par l'hydrazine (déficients en C_3 et C_4), NELSON et GIGLI (86) ont révélé la présence de C_9 grâce à l'intermédiaire EAC_{1-8} préparé à partir de composants de Cobaye et JENSEN (66) isola un C_4 inactivateur dirigé contre le C_4 humain ou le C_4 de Cobaye, et présentant du point de vue physico-chimique les caractères de $C_1\overline{s}$ humain. Cela serait peut-être une sous-fraction de C_1.

Ainsi, ces espèces possèdent un complément qui peut être comparé à celui des Mammifères.

Mais dans cette même classe, l'Untrygon (Dasyatis americana)

voisin de la Raie, possède un sérum n'ayant aucune action sur les hématies de Mouton. Il semble donc exister,à l'intérieur de cette classe, une variation importante et mal comprise entre les différentes espèces.

c) - Classe des Ostéîchtyens -

Trois super-ordres ont été étudiés : les Chondrostéens, les Holostéens et les Téléostéens, ces derniers possédant de nombreuses capacités immunitaires.

Chez ces Poissons, le sérum hémolyse les hématies de nombreuses espèces, cette propriété étant thermolabile et bloquée par l'EDTA. On retrouve donc le même système que chez les Chondrychtyens, avec intervention du complément et des hémolysines.

La potentialisation de la lyse par sensibilisation spécifique des hématies semble donner des résultats variables selon les auteurs.

Seul C_1 a pu être mis en évidence à l'aide d'intermédiaires préparés à partir de fractions isolées chez le Cobaye. Mais cela relève sans doute de l'incompatibilité des autres fractions avec celles provenant de Mammifères.

Le fractionnement du sérum de poisson sur gel Séphadex G 200 aboutit à la formation de trois pics : 19 S 8 S et 5 S La combinaison des fractions 19 S et 8 S restaure l'activité hémolytique. Mais, d'après CHILLER et coll. (23), l'activité complémentaire nécessaire à la formation de plages d'hémolyse se concentrerait dans un seul pic à la suite de la chromatographie sur ce même gel du sérum de Truite (Salmo gairdneri) Un autre pic correspondrait à l'hémolysine naturelle active sur les globules rouges de Mouton. On peut donc supposer que le complément correspond au pic de protéines de constante de sédimentation 8 S et que l'hémolysine naturelle, ayant une constante de sédimentation 19 S est en réalité une IgM puisque c'est la seule classe d'immunoglobulines reconnue chez les Poissons.

De toutes manières, cela correspond à un système plus uniforme du point de vue du poids moléculaire et donc très certainement

simplifié par rapport au complément de Mammifères.

d) - Classe des Batraciens -

Chez deux espèces de Grenouille (Rana pipiens et Rana castes bieana un Crapaud (Bufo marinus) et un Protée (Necturus maculosus), l'activité hémolytique a été révélée vis à vis d'hématies d'origines diverses, et celle-ci est augmentée lors de présensibilisation des hématies, sauf chez le Protée (Tableau X). Le titre de complément varie de 44 à 500 UCH 50/ml selon la nature et le nombre des hématies. Il a également été mis en évidence un cofacteur sérique, à la base de l'activation de la voie alterne. Ce système possède donc de très grandes similitudes avec celui des animaux supérieurs.

e) - Classe des Reptiles -

Dès 1903, FLEXNER et NOGUCHI (36) relatent l'activité hémolytique du sérum de serpent, sans présensibilisation des hématies. Mais à l'aide de cette dernière, les titres de complément atteignent 80 à 200 UCH 50/ml.

De plus, un cofacteur présent dans le sérum de Tortue et de Serpent aboutit à la lyse d'hématies à l'aide de composants terminaux de Tortue.

Ici encore, un système complémentaire très complet est présent.

Nous avons déjà étudié les résultats obtenus chez les Oiseaux et les Mammifères. Ainsi, malgré des études encore incomplètes dues aux difficultés expérimentales, nous pouvons dire que le complément existe à partir de la classe des Chondrichtyens et qu'il se développe jusqu'aux classes supérieures des Oiseaux et des Mammifères.

Après avoir vu la phylogénie, étudions ce que l'on a l'habitude d'appeler son "résumé", c'est à dire l'ontogénie.

- ONTOGENIE -

Trois caractéristiques de la mise en place du complément sont à prendre en considération : l'apparition dans le sérum d'une activité globale ou d'une fraction mise en évidence par le dosage, l'étude des lieux de synthèse de ces fractions, le déterminisme génétique de la synthèse du complément.

1 - Apparition du complément dans l'organisme -

L'appréciation du moment d'apparition du complément chez l'animal est importante à considérer, afin de savoir si ce mécanisme joue un rôle effectif dans les défenses du nouveau-né, qui représente un organisme fragile.

a) - Méthode de dosage -

Le dosage en lui-même s'effectue selon les méthodes déjà décrites. Mais il reste le problème des prélèvements de sérum. Les études sur les foetus de Mammifères nécessitent des hysterotomies à différents stades de gestation ; le sang est alors prélevé par ponction cardiaque. Chez le nouveau-né, la méthode est identique à celle employée chez l'adulte.

Chez les Volailles, avant l'éclosion de l'oeuf, la ponction se fait au niveau de la veine chorioallantoïque.

Il faut remarquer que, d'après certains auteurs, les sérums d'animaux nouveaux-nés semblent beaucoup moins bien se conserver que chez l'adulte et perdre leur activité complémentaire rapidement, ceci malgré la congélation à - 70°C (100).

b) - Résultats -

Différents dosages ont été réalisés chez les Bovins, les Ovins, les Porcins et les Volailles. Les résultats figurent dans les Tableaux XI et XII.

Gestation (ou développement de l'oeuf)	Naissance (ou éclosion)	Développement du jeune
BOVINS		
HC : apparaît à 90 j. ↑ régulière (5.30 UCH 50/ml)	50 UCH 50/ml	↑ pendant 10 j. : 100-150 UCH/50/ml maximum à 3 ans (100-200 UCH 50/ml)
KC apparaît à 110-160 j. ↑ faible	2 UCK/ml	1°-légère ↘ dans les heures qui suivent la naissance, et ↑ rapide → taux élevé à 5 j. (5.10 U/ml)
		2°-↘ importante dans les jours suivant la naissance et ↑ → taux élevé à 2 m. (5.10 U/ml)
(4, 5, 11)		maximum à 3 ans (20.40 U/ml)
(103)	10,6 → 71,4 UCH 50/ml (moyenne : 33,5)	1 m. : 38,5 → 143 UCH 50/ml (80,9) 3 m. : 41,7 → 147 (101) maximum à 6 m. au moins
(100)	52,0 ± 21,4 UCH 50/ml	
(71)	Les veaux ont un taux de complément hémolytique plus élevé que les adultes, ceci étant sans doute à relier à la grande résistance non spécifique dans les affections à protozoaires (étude africaine)	
OVINS		
apparaît à 123 j. : 4,4 4,4 → 7,7 UCH 50/ml (104)		↑ importante la 1ère semaine (20 UCH 50/ml) à 10 semaines, taux inférieur à celui de l'adulte
C_1 apparaît à 39 j. (70 UCH 50/ml) ↑ jusqu'à 60 j. (2000 → 5000) puis constant jusqu'à la naissance (24)		taux adulte 2 j. après la naissance
PORCINS		
C apparaît à 40 j.(2 UCH 50/ml) ↑ faible C_1 et C_2 apparaissent à 40 j. C_4 apparaît à 70 j. (29)		↑ forte → taux adulte en 1 semaine (120 UCH 50/ml)
C_3 apparaît à 60 j. faible taux jusqu'à 5 j., puis ↑ rapide $C_5C_6C_7$: identique C_8C_9 apparaissent à 47 j. C_8 : 2500 UCH 50/ml ↑ régulière C_9 : 300 UCH 50/ml C_3 proactivateur apparaît à 47 j. ↑ à partir de 80 j. (47)		30 % du taux adulte à 12 j. même taux que chez l'adulte 10 % " " " " " " 20 % " " " " " " 30 % " " " " " "
POULE		
apparaît à 10.13 j. C : 2 UCH 50/ml C_1 : 50 UCH 50/ml au 20ème jour : C : 20-30 UCH 50/ml C_1 : 120 UCH 50/ml (42)		↑ importante le jour de l'éclosion (taux x 3) ↑ pendant 10 j. : le 11ème j. : C : 280 UCH 50/ml C_1 : 3000 UCH 50/ml Chute le 13ème j. et valeur constante jusqu'au 21ème jour. C : 200-250 UCH 50/ml et C_1 : 1500-2500 UCH 50/ml à partir du 22ème j. : C : 400 UCH 50/ml C_1 : 3000 UCH 50/ml
à 18 jour C 9 UCH 50/ml (48)		

TABLEAU XI: Ontogénie du complément chez les animaux domestiques.

Espèce	UCH 50/ml	C nouveau-né / C adulte
Veau	0	
Agneau	5	0,50
Chevreau	0	
Chaton	20	0,50
Poulet	30	0,75

TABLEAU XII

Taux du complément chez les animaux domestiques nouveaux-nés d'après VARGUES et coll. (118)

Plusieurs points doivent être soulignés.

Il faut tout d'abord remarquer que les taux de complément et de ses composants chez le jeune sont inférieurs à ceux de l'adulte. RENSHAW et coll. (100) ont donc essayé de mettre en évidence une substance anticomplémentaire présente dans le sérum des jeunes animaux ; mais en mélangeant des volumes égaux de sérums de veaux et de leurs mères, on obtient des taux normaux, alors qu'une substance anticomplémentaire réagissant avec le sérum maternel impliquerait un faible pouvoir hémolytique. Cette substance n'interagit peut-être pas avec le sérum maternel en raison d'une spécificité marquée vis à vis du sérum des nouveaux-nés, mais il faut plutôt rechercher d'autres mécanismes encore inconnus à l'heure actuelle.

Un problème important est de savoir si les protéines du complément sont apportées par la mère ou synthétisées par le foetus. Avant la mise en évidence des sites de synthèse chez le foetus, cette question était délicate. Tout d'abord, le placenta représente une barrière efficace au passage des protéines du complément chez l'homme, les Rongeurs et les Ongulés (25, 34). De plus, il n'existe pas de relation directe entre les taux de complément chez les mères et leurs jeunes (100).

Dans l'oeuf, on retrouve une activité complémentaire alors que c'est un milieu clos. Les protéines pourraient être stockées dans le vitellus, mais l'injection de cellules immunocompétantes étrangères provoque une augmentation du taux de complément prouvant ainsi l'existence d'une synthèse active (48).

Enfin, mis à part DAY et coll. (29), les auteurs affirment que le colostrum n'apporte pas en quantité suffisante les composants nécessaires ; les témoins privés de colostrum possèdent un titre équivalent à celui des autres animaux (5, 24, 104). Il faut également faire quelques remarques supplémentaires :

- la stimulation du foetus à l'aide d'antigènes (ovalbumine, ferritine, bacteriophages) seuls ou mélangés à l'adjuvant de Freund, ainsi que la réalisation d'homogreffes n'entraînent pas d'augmentation notable de la synthèse. Seul GEWÜRZ (48)

obtient une stimulation de la synthèse en pratiquant une greffe contre hôte, chez les Oiseaux, mais il faut signaler que, dans ce cas, il injecte des cellules immuno-compétentes.

- l'étude de GEIGER et coll. (47) indique que l'inoculation de lipopolysaccharides bactériens entraîne chez l'adulte une activation des deux voies, alors que chez le foetus, seule la voie alterne est mise en jeu.

- Lors de l'appréciation du complément conglutinant chez les Bovins, BARTA a montré que deux types d'évolution sont possibles. La seconde (n°2) semble être due à une contamination orale importante par diverses bactéries (Tableau XI).

En conclusion, on peut donc affirmer que le complément représente un des tout premiers moyens de défense chez le foetus, et donc un des plus importants. Il ne résulte pas d'un apport maternel, mais est synthétisé par le foetus lui-même, en différents lieux que nous allons maintenant envisager.

2 - Lieux de synthèse -

La seule espèce étudiée, parmi les animaux domestiques, est le Porc et uniquement pour deux composants : C_1q et C_8. Il faut ajouter que, même chez l'homme, les sites de synthèse de certaines fractions sont encore inconnus.

a) - Méthodes -

Les tissus à tester sont prélevés aseptiquement, soit chez l'adulte, soit chez le foetus, et récoltés en milieu de Hanks. Un extrait tissulaire est réalisé. Puis, pour doser le composant, deux techniques sont utilisées : la mise en évidence à l'aide d'un intermédiaire cellulaire, ou l'immunodiffusion radiale grâce à l'anti-sérum correspondant, les acides aminés du milieu de culture ayant été préalablement marqués à l'aide du carbone 14 ($^{14}C^*$).

b) Résultats -

Les Tableaux XIII et XIV résument les données acquises.

Age du foetus	Duodenum	Jejunum Iléon	Caecum Colon Rectum	Rate	Ganglions mésentériques	Ganglions cervicaux	Poumon	Foie	Thymus	Rein
48 jours	+	+	+	-	-	NT	-	-	-	-
66 jours	+	++	++	±	+	+	-	-	-	-
79 jours	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-	-
84 jours	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-	-
90 jours	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-
100 jours	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	-	-
adulte	+++	+++	+++	++	++	++	NT	+	-	-

TABLEAU XIII : Synthèse de C_1q chez le Porc d'après DAY et coll. (30)

Age du foetus	Rein	Rate	Foie	Poumon	Duodenum	Colon
47 jours	±	-	+	+	+	±
71 jours	±	-	+	+	+	±
79 jours	±	-	+	+	+	±
89 jours	±	-	+	+	+	+
100 jours	+ +	+	+ +	+	+	+
112 jours	+	+	+++	+	+ +	+
adulte	+++	+++	+++	+++	NT	NT

TABLEAU XIV : Synthèse de C_8 chez le Porc d'après GEIGER et coll. (46)

L'intestin semble jouer un rôle très important pour la synthèse de C_1q, alors que le rein, la rate, le foie et le poumon en font de même pour C_8, et ceci à partir du 48ème jour de gestation. Mais il faut savoir si les fractions isolées ne sont pas en fait synthétisées ailleurs et simplement stockées dans ces organes. Le chloramphénicol pour C_1q, l'actinomycine D et le cycloheximide pour C_8, s'ils sont ajoutés au milieu, entraînent la disparition de toutes traces de composants. En effet, ces trois antibiotiques inhibent la synthèse protéique des cellules animales. De plus, le taux de C_8 obtenu dépend de la température d'incubation. Il s'agit donc bien d'une synthèse réelle. Dans d'autres tissus que ceux rapportés dans le Tableau XIV, exception faite de la moelle osseuse, des traces de C_8 préformé ont d'ailleurs été mises en évidence, mais sans phénomène de synthèse.

La nature des cellules responsables est encore très hypothétique, surtout pour C_8. En ce qui concerne C_1q, la première théorie impliquant les cellules épithéliales de l'intestin semble s'écarter au profit du rôle primordial des cellules d'origine mésenchymateuse, car on retrouve cette synthèse dans d'autres tissus que l'intestin, en particulier, ceux riches en cellules lymphoïdes. En conclusion, et en considérant les résultats obtenus chez l'homme (120), on peut donc dire que le foie, la rate, le poumon et l'intestin synthétisent la grande majorité des composants du système complément avec sans doute une grande importance du système lymphoïde. Cette synthèse est contrôlée par un déterminisme génétique qu'il reste à préciser.

3 - Déterminisme génétique -

Chez l'homme, le polymorphisme génétique des protéines C_3, C_4, C_6 et facteur B a permis de définir de nouveaux groupes sériques et a servi pour l'étude de populations, la recherche de paternité, ou l'établissement de cartes chromosomiques. Trois composants, C_4, C_2 et le facteur B, sont contrôlés par des gènes étroitement associés aux gènes du complexe principal d'histocompatibilité HLA sur le chromosome 6. La signification de cette liaison génétique étroite n'est pas encore élucidée.

Chez les animaux, CHANH et coll. (21) ont mis en évidence une corrélation entre l'activité hémolytique et le complexe principal histocompatibilité chez le Poulet. Le caractère "activité faible" semble être récessif. Les gènes contrôlant l'activité hémolytique pourraient être les plus anciens du complexe principal histocompatibilité, puisque le complément est un des tout premiers mécanismes de défense.

D'après VAIMAN et coll. (116), la même corrélation se retrouve chez le Porc, mais dans ce cas, c'est le caractère "activité forte" qui est récessif, tout comme chez la Souris. On ne connaît pas actuellement la nature du contrôle ou le nombre de gènes impliqués ; par analogie avec les autres espèces, le contrôle doit s'effectuer sur les premiers composants.

La relation entre le complexe majeur d'histocompatibilité et les défenses immunitaires de l'organisme par l'intermédiaire du complément est donc certaine, mais de nature difficile à préciser. Elle pourra peut-être trouver plus tard une application dans la sélection zootechnique sur le caractère "résistance aux infections". Mais de nombreuses études restent à faire. Avant d'arriver à ce point, il faut préciser quel rôle exact joue le complément dans les défenses de l'organisme.

II - RÔLE DU COMPLÉMENT DANS LES DÉFENSES DE L'ORGANISME -

Le complément, agissant dans le cadre des défenses immunitaires, intervient lors de trois types d'agressions : l'infection bactérienne, l'infection virale et l'infestation parasitaire.

- INFECTION BACTERIENNE -

Deux milieux ont été étudiés : le sérum, support de l'immunité humorale, et le lait ainsi que le colostrum, afin de mettre en évidence une éventuelle transmission aux jeunes.

1 - Dans le sérum -

Le complément peut intervenir, dans le cadre strict de l'immunité humorale, mais peut également agir en coopération avec certaines cellules, en particulier les macrophages et les microphages d'une part, les lymphocytes d'autre part.

a) - Action du complément dans le cadre de l'immunité humorale -

Le phénomène de bactériolyse est bien connu et est, comme nous l'avons vu, similaire à l'hémolyse, tout au moins en ce qui concerne les dernières étapes.

VARGUES (117) a ainsi testé l'action de divers sérums animaux sur l'activité respiratoire de Escherichia Coli (E.Coli). Si le sérum est chauffé à 56°C pendant 30 min. on note une augmentation des échanges respiratoires, liée aux petites molécules présentes (acides aminés, vitamines...). Mais le sérum frais de Bovin, de Mouton, de Chien ou de Chat provoque une légère baisse de l'activité respiratoire, encore exacerbée si l'on y ajoute un excès de complément. Il y a donc bien une action directe sur les bactéries. Mais il reste à déterminer quelle est la voie d'activation utilisée.

Chez les Bovins, HILL et coll. (65) ont montré que la voie alterne est responsable de l'activité bactéricide vis à vis de deux souches de E.Coli : W_1 et B_{41}. En effet, si l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA), qui est un chelateur de Ca^{2+} et Mg^{2+} supprime cette activité, l'acide éthylène glycol tétracétique (EGTA) qui a seulement une action vis à vis de Ca^{2+} (elle est très faible vis à vis de Mg^{2+}),la conserve totalement. De même, l'acide ε aminocaproïque, inhibant C_1, n'apporte aucune modification à la lyse de E.Coli. Mais l'absorption du sérum à l'aide de bactéries homologues diminue de façon importante l'activité uniquement vis à vis de la souche W_1. Il semble donc que deux mécanismes puissent être mis en jeu : l'un dépendant uniquement du complément (c'est le cas pour la souche B_{41}), l'autre

nécessitant en plus du complément une substance adsorbable, sans doute des anticorps spécifiques (C'est le cas pour la souche W_1).

Par contre, RENSHAW et coll. (99) ont démontré que s'il existe bien une activité bactéricide sans agglutination vis à vis de E.Coli et Staphylococcus aureus, dans le sérum de Bovin, celle-ci n'apparaît pas chez le Veau nouveau-né, alors qu'il possède un complément à un taux réduit il est vrai. La voie alterne ne semble donc pas être activée dans ce cas précis. FÜST et KERESZTES (39) ont étudié l'effet de l'endotoxine de Serratia marscecens sur les fractions du complément de Chien. Toutes ont des taux diminués dans les dix minutes qui suivent l'injection. De même, GEIGER et coll.(47) ont observé un effet identique chez le Porc adulte, in vitro, à la suite de l'addition de lipopolysaccharides de E.Coli.

On peut donc se demander si les deux voies d'activation ne sont pas mises en jeu : en effet, les lipopolysaccharides peuvent activer les deux voies. La proportion de chacune d'entre elles varie selon les souches de la même espèce bactérienne, ce qui peut expliquer les résultats de HILL et coll. (65). De même, certaines souches semblent être totalement résistantes, par exemple E. Coli B117 pour le complément du sérum bovin. D'après MORRISON (81), la partie lipidique du lipopolysaccharide activerait la voie classique, alors que la partie polysaccharidique serait responsable de la mise en jeu de la voie alterne. Ainsi, la réaction de l'organisme semble varier selon le lipopolysaccharide, et donc la souche bactérienne en cause. Cela explique les résultats contradictoires obtenus, notamment chez les animaux de laboratoire.

Donc, si l'on connaît les résultats de l'action du complément vis à vis des bactéries, qui ont même été photographiés (HILL et coll. 64), le mécanisme semble peu clair.

D'autre part, le complément peut intervenir en collaboration avec les leucocytes.

b) - Action en collaboration avec les leucocytes -

Le complément, par son activité opsonisante, favorise la phagocytose des bactéries par les macrophages et les granulocytes neutrophiles. Cela a été mis en évidence, chez le Veau nouveau-né par RENSHAW et coll. (99), qui ont réalisé les expériences suivantes : si, à du sérum de Vache chauffé à 56°C, c'est à dire décomplémenté, mais riche en IgG, on ajoute des leucocytes de Vache, on observe une phagocytose et une bactéricidie vis à vis de E. Coli et Staphylococcus aureus. En effet, les IgG représentent une bonne source d'opsonines et le complément n'intervient pas. Si on remplace les leucocytes de Vache par des leucocytes de Veau, le même phénomène se produit ; l'origine des leucocytes n'intervient donc pas. Par contre, si on ajoute des leucocytes de Veau à du sérum de Veau nouveau-né, chauffé à 56°C, aucune phagocytose ne se produit. En effet, ce sérum décomplémenté par la chaleur est de plus très pauvre en IgG, et aucun phénomène d'opsonisation ne se produit. Mais, si ces leucocytes de Veau sont ajoutés à du sérum frais de Veau nouveau-né, on observe une phagocytose et une bactéricidie vis à vis de Staphylococcus aureus, mais rien vis à vis de E. Coli. Pourquoi ? Ce sérum frais de Veau contient une très faible quantité d'IgG anti-Staphylococcus, mais aucune IgG anti-E.Coli. Le complément présent, puisque le sérum n'a pas été chauffé, potentialise donc l'activité opsonisante des quelques IgG présentes anti-Staphylococcus, ce qui provoque l'opsonisation et la phagocytose de Staphylococcus aureus. Ainsi le complément potentialise l'action d'un faible taux d'IgG, mais il faut aussi remarquer qu'en présence d'un taux normal d'IgG, l'addition de complément entraîne une augmentation de la phagocytose.

L'absence d'activité vis à vis d'E.Coli, très certainement due à l'absence d'IgG anti-E.Coli, semble confirmée par le fait que la pathologie infectieuse du jeune soit beaucoup plus souvent liée à ce germe qu'à Staphylococcus aureus.

D'autre part, le complément intervient dans un phénomène propre aux lymphocytes : la coopération cellulaire entre les cellules B et T. Cela a été démontré par NIELSEN et WHITE (87) chez les Oiseaux. Lors du premier contact entre un organisme et

un antigène thymo-dépendant, tel que des hématies de Mouton, les macrophages coopèrent avec les lymphocytes T dit "helper" qui "informent" les lymphocytes B. Ces derniers secrètent alors des IgM. Lors du deuxième contact avec ce même antigène, les lymphocytes B préalablement informés secrètent des IgG. Par contre, lors des contacts successifs entre un organisme et un antigène thymo-indépendant, tel que les lipopolysaccharides bactériens, les lymphocytes T n'interviennent plus : les macrophages coopèrent avec les lymphocytes B par l'entremise du complément et la réponse des lymphocytes B se traduit toujours par une sécrétion d'IgM.

Si un organisme est préalablement décomplémenté par l'injection de venin de Cobra, la réponse à un antigène thymodépendant sera toujours une sécrétion d'IgM par les lymphocytes B. On peut donc penser que le complément intervient, sans doute par C_3 ou par un composant intervenant après lui dans la séquence d'activation, au niveau de la transformation de la synthèse d'immunoglobulines par le lymphocyte B informé.

Mais chez les animaux domestiques, aucun travail n'a complété cette idée.

Le complément joue donc un rôle important vis à vis des macrophages, des microphages et des lymphocytes.

Si dans le sérum se trouve concentrée une part très importante des mécanismes de défense immunitaire de la mère, deux produits de sécrétion, la colostrum et le lait, en transmettent une partie au jeune. Leur étude est donc intéressante à considérer.

2 - Dans le colostrum et le lait -

JONAS et BROAD (68), étudiant le colostrum de Brebis, ne purent mettre en évidence une activité hémolytique, mais remarquèrent que ce colostrum pouvait restaurer l'activité des réactifs R, surtout en ce qui concerne R_1. Cela suggère donc la présence de composants du complément, et en particulier de C_1.

Chez les Bovins, REITER et BROCK (98) n'obtinrent aucune hémolyse avec le lait ou le colostrum. Mais par le test de conglutination, les quatre premiers composants furent trouvés dans le lait. De plus, le chauffage à 56°C pendant 30 min. ou l'addition d'un inhibiteur de C_3 (N acétyltyrosine éthylester) abolissent l'activité bactéricide présente dans le lait normal. Enfin, l'activité bactéricide d'un lait inactivé par la chaleur peut être restaurée en ajoutant du sérum de Veau n'ayant pas reçu de colostrum, ce qui représente une source de complément sans aucun anticorps. On peut donc affirmer que le lait est une source de complément, mais à faible taux.

Ces mêmes auteurs, dans un premier temps, observent un certain taux d'hémolyse en utilisant le sérum de Veau n'ayant jamais reçu de colostrum comme source de complément et un système hémolytique donné. Lorsqu'ils ajoutent in vitro au système précédent une certaine quantité de colostrum, ils notent une augmentation significative de cette hémolyse. Cela suggère donc la présence de fractions du complément dans le colostrum.

BROCK et coll. (18) ont mis en évidence l'activité bactéricide du colostrum sur une souche de E.Coli (8007) alors qu'il est inactif sur une autre souche (9119). Mais ce phénomène est dû au faible taux du complément, et non pas au manque d'anticorps. (Le facteur limitant de la réaction, étudié par dilution, est le complément). D'autre part, les études des réactions après chauffage aboutissent au fait que le colostrum manque de composants thermostables, alors qu'il est riche en fractions thermolabiles, ce qui confirme les travaux de JONAS et BROAD (68). Enfin, l'activité hémolytique, mise en évidence pour la première fois à l'aide de globules rouges de Lapin, est totalement inhibée par l'EGTA, ce qui suggère que seule la voie classique intervient dans l'activation du complément colostral. Mais les IgA qui ne fixent pas le complément chez l'homme, peuvent avoir une activité bactéricide dans le colostrum de Truie (HILL et PORTER 63), en présence de complément et de lysosyme. Ce rôle, souvent contreversé, peut s'expliquer par le fait que les anticorps, fixés à la surface des bactéries, sont agrégés et activent la voie alterne.

Donc, ici encore, la voie exacte responsable de la bactéricidie est inconnue.

Il faut ajouter que, pour mettre en évidence le complément dans le colostrum, il faut le diluer afin d'éviter un phénomène de prozone (98) : de fortes concentrations en anticorps et notamment en IgG, comme c'est le cas dans le colostrum, diminuent de façon notable l'activité bactéricide.

En conclusion, on peut donc affirmer que le lait et le colostrum possèdent une activité bactéricide due au complément. Mais le faible taux de ce dernier, et le fait que la trypsine ou la chymotrypsine, protéases digestives, inhibent son action, ne peut expliquer, par le seul apport, l'augmentation importante de complément trouvée chez le jeune animal, et surtout diminuent très certainement son rôle dans le cadre des défenses immunitaires transmises par la mère.

Si l'action de protection antibactérienne du complément est importante, il en est de même lors d'une atteinte souvent plus difficile à combattre : l'infection virale.

- INFECTION VIRALE -

Le complément intervient à deux niveaux contre les virus : d'une part, par une activité neutralisante et lytique, soit sur le virus, soit sur la cellule infectée, d'autre part, dans le cadre de la cytotoxicité dépendant des anticorps (ADCC).

1 - Neutralisation virale et lyse -

En étudiant le virus de la bronchite infectieuse aviaire, BERRY et ALMEIDA (13) observèrent une différence importante entre les activités neutralisantes des sérums frais et chauffés ; le pouvoir infectieux du virus est beaucoup plus réduit lorsqu'il est soumis à l'action du sérum frais. Ils remarquèrent de plus que les sérums non chauffés agissaient de manière différente selon qu'ils étaient homologues (c'est

à dire de Volaille) ou hétérologues (c'est à dire de Lapin). Le sérum hétérologue aboutit à la formation de trous dans l'enveloppe virale, en tous points comparables à ceux obtenus lors de l'hémolyse. Ces trous au niveau des lipoprotéines de l'enveloppe aboutissent à la virolyse. Par contre, le sérum homologue n'induit pas la formation de trous au niveau de l'enveloppe ; celle-ci n'est pas reconnue comme étant antigéniquement différente de l'hôte et ainsi, lors de l'action d'un sérum homologue dépourvu de complément, les immunoglobulines ne sont fixées que sur les projections du virus, et pas sur l'enveloppe. Si l'on ne chauffe pas le sérum, l'enveloppe est toujours intacte ; l'effet antiviral est augmenté par rapport à celui du sérum homologue chauffé, mais aucune différence morphologique visible au microscope électronique ne peut être décelée. Dans ce cas, le complément agirait au niveau des protéines virales : C_4b s'attacherait au virus et empêcherait la pénétration dans la cellule.

D'autre part, HARALAMBIEV (58) observa que l'effet neutralisant du sérum de Veau infecté par un Myxovirus parainfluenza 3 dépend de la souche utilisée, et donc sans doute, de la virulence. L'apparition de la maladie serait due à une hypocomplémentémie, sans doute en relation avec un stress extérieur. De plus, l'activité neutralisante d'un sérum bivalent anti PI3 et anti-adenovirus est diminuée après contact avec l'adenovirus : en effet, le complément est consommé et le reste ne peut assurer une défense active. Cela pourrait expliquer en partie la pathogénie d'infections dues à plusieurs virus.

Une infection virale a été plus étudiée que les autres : la leucémie féline due au virus FeLv (féline leukemia virus) appartenant au groupe des Oncornavirus. GRANT et coll. (52) utilisèrent le test de relargage du ^{51}Cr : dans un premier temps, les cellules sont placées dans un milieu contenant cet élément radioactif ; puis, après lavage, elles sont incubées avec du sérum de Chat et éventuellement une source de complément exogène. Ainsi, ils observèrent que le sérum de Chats

infectés par le virus FeLv lyse les cellules FL74 qui répliquent ce virus, en présence de complément de Lapin ou de Cobaye (cette lignée FL74 est constituée de cellules lymphoblastiques de Chat). Il existe donc des anticorps cytotoxiques complément-dépendants agissant sans cellules effectrices. Cette lyse cellulaire se produit également avec du complément de chat (53), mais la vitesse de réaction est très lente lorsqu'on utilise du sérum de Chat naturellement infecté par le virus FeLv, soit parce que les anticorps ont une faible affinité pour l'antigène, soit parce que l'antigène cellulaire de surface est en faible quantité, excepté pendant une courte phase du cycle cellulaire.

Les cellules infectées produisent un nouvel antigène de surface, le Feline Oncornavirus Associated Cell Membrane Antigen (FOCMA), spécifique de la tumeur, mais pas du virus. L'exposition des Chats à une infection horizontale du virus FeLv induit la production d'anticorps lytiques pour les cellules FL74 en présence du complément de Chat ; ces anticorps sont similaires aux anticorps anti FOCMA, qui, in vivo, possèdent une activité antitumorale certaine (55). Le complément joue donc un rôle effectif dans la résistance naturelle à la leucémie féline en limitant le développement et la dissémination des cellules tumorales, entravant ainsi la formation de "métastases". On retrouve le même phénomène dans le lymphosarcome félin (74) ; en effet, 90 % des Chats atteints de lymphosarcomes sont infectés par le virus FeLv. Par contre, chez les Chiens atteints de maladies néoplasiques, aucune modification dans le taux de complément ne peut être décelée, si ce n'est une plus grande variabilité des résultats selon les individus (79) (mais cela se retrouve aussi chez les Chiens atteints de maladies graves non néoplasiques).

Donc, si l'effet neutralisant et lytique est certain, il reste toujours le même problème, celui du mécanisme incriminé. Là encore, les avis divergent. O'NEILL et coll. (91) observent chez les Chats sains infectés par le virus FeLv une diminution des taux de C_3, C_5 et C_6, alors que C_4 et C_2 sont en quantité normale ou plus élevée. Par contre, des taux élevés de tous les composants sont trouvés chez les Chats cliniquement leucémiques, mais chez

lesquels aucun virus FeLv ne peut être isolé, et une grande variabilité des résultats caractérise les Chats leucémiques et infectés. L'activation,lors d'infection, semblerait donc se faire par la voie alterne. Selon KOBILINSKY et coll. (74), les Chats atteints de lymphosarcomes et infectés par le virus FeLv présentent une hypocomplémentémie due à l'activation de la voie classique, car les taux de C_1q, C_4 et C_2 sont beaucoup plus bas que la normale. Mais le taux de facteur B est également très bas, ce qui met en cause la voie alterne. Toujours selon ces auteurs, les Chats sains et infectés possèdent des taux normaux pour toutes les fractions du complément. Donc, ces résultats semblent en contradiction avec ceux de O'NEILL et coll. (91) bien que, dans un cas, l'étude porte sur des Chats leucémiques, et dans l'autre sur les Chats atteints de lymphosarcomes, ce qui, malgré tout, ne doit pas avoir beaucoup d'importance.

De plus, la lyse de lignées cellulaires infectées par des virus Herpès de type 1, des virus influenza, le virus de la rougeole ou celui des oreillons, est produite, d'après PERRIN et coll. (95) par la voie alterne, mais avec une participation des IgG puisqu'elle se réalise avec un sérum immun traité par l'EGTA ou déficient en C_4. Enfin, une étude détaillée de l'interaction des composants du complément avec le virus de l'artérite équine sensibilisé a été faite par RADWAN et CRAWFORD (97). La neutralisation et la virolyse dépendent de la concentration en différentes fractions et en anticorps sensibilisants : de fortes concentrations de C_4, C_2 et C_3, avec une concentration optimale en C_1 sont suffisantes pour neutraliser le virus en présence d'un excès d'anticorps. L'addition des cinq composants restants induit la lyse des virus neutralisés : celle-ci est induite par C_8 et potentialisée par C_9. Ils peuvent également augmenter la neutralisation du virus, mais uniquement lorsque celle-ci est réalisée en présence d'une faible concentration en anticorps.

On peut donc, en résumé, affirmer que le mécanisme d'action est encore loin d'être connu et peut, éventuellement, mettre en cause les deux voies d'activation.

Comme dans les infections bactériennes, le complément peut également intervenir en coopération avec certaines cellules, lors de cytotoxicité dépendant des anticorps.

2 - Cytotoxicité dépendant des anticorps (ADCC) -

Le rôle du complément dans ce mécanisme de défense a été étudié par ROUSE et coll. (109) chez les Bovins. L'ADCC est un phénomène de lyse cellulaire se produisant in vitro. Les cellules effectrices doivent avoir à la surface des récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines ; ce récepteur se lie à l'anticorps, lui-même fixé à la cellule cible qui contient l'antigène viral. Mais un récepteur de la fraction Fc n'est pas suffisant : il faut une coopération entre différents types de récepteurs, et notamment ceux du complément, également présents sur la cellule effectrice. Si la cellule cible est infectée par un Herpès virus, à savoir le virus de la rhinotrachéite infectieuse, l'addition de complément, à des taux inférieurs à ceux nécessaires pour la lyse, augmente considérablement l'ADCC. De plus, des cellules initialement inefficaces, comme les lymphocytes, peuvent, en présence de complément induire l'ADCC.

Le mécanisme est très mal connu, de nature physique (liaisons différentes) ou chimique (déclenchement d'un signal biochimique). Mais cette action, peu étudiée, ne semble pas pour autant négligeable.

On peut donc pressentir le rôle important que le complément joue de façon directe ou indirecte dans la protection contre les maladies virales. Il reste une dernière atteinte de l'organisme à étudier : l'infestation parasitaire.

- INFESTATION PARASITAIRE -

L'action de sérums d'animaux domestiques n'a été testée que vis à vis de deux Cestodes : Echinococcus granulosus et Echinococcus multilocularis.

Le sérum frais de Mouton lyse les protoscolex de ces deux parasites, et cette propriété est abolie par le chauffage à 56°C pendant 30 min., la présence d'EDTA ou l'incubation préalable avec le venin de Cobra. Le complément est donc responsable de cette action ; d'ailleurs, son activité diminue de 13 % après la réaction (lyse de 1200 protoscolex). La séquence a été très bien observée in vitro : pendant un temps allant de 10 min. à 24 heures, le protoscolex gonfle, surtout au niveau du pôle postérieur ; la membrane se rompt, le contenu cytoplasmique s'écoule à l'extérieur et la mort survient.

Mais, en réalité, in vivo, les protoscolex ne sont plus isolés, ce qui limite le rôle du complément. Tout d'abord les protoscolex sont contenus dans les kystes hydatiques. Les protéines, et donc le complément, peuvent traverser cette membrane, mais le liquide hydatique contient des corpuscules calciques possédant une forte activité anticomplémentaire. D'autre part, les protoscolex lysés libèrent également dans le milieu ces corpuscules calciques, contenus initialement dans le cytoplasme, ce qui protège les protoscolex voisins. Enfin, deux formes résistent in vitro, et donc surement aussi in vivo : les vésicules hydatiques miniatures, et les protoscolex évaginés ayant perdu leurs crochets (cette modification s'accompagne certainement d'un changement antigénique à la surface du parasite).

On voit donc que si le complément peut limiter l'envahissement de l'organisme par le parasite, en limitant les conséquences de l'éclatement des kystes hydatiques, il ne peut que très modérément lutter contre les kystes en place.

HERD (62) a mis également en évidence, d'une manière identique, la lyse des protoscolex et des formes adultes de Echinococcus granulosus par le complément de Veau, de Chien, de Mouton et de Cheval. Pour ce dernier, la réaction est d'ailleurs beaucoup plus discrète. Ce phénomène s'accompagne, lorsque l'on utilise un sérum hyperimmun de Chien, d'agglutination de protoscolex ou de précipitation des formes adultes, ces deux propriétés restant seules en cause si le sérum est chauffé à 56°C pendant 30 min.

Une fois de plus, le mécanisme intime est peu connu : d'après KASSIS et TANNER (72), la présence d'immunoglobulines de l'hôte dans le liquide hydatique et sur la membrane du kyste pourrait faire penser à une activation par la voie classique.

Mais HERD (62), à l'aide d'anticorps fluorescents, a démontré l'absence d'immunoglobulines de Mouton adsorbées à la surface des protoscolex et d'immunoglobulines de Chien à la surface des formes adultes. De plus, l'adsorption des anticorps naturels du sérum ne change en rien le déroulement de la lyse. Il en déduit donc que la voie alterne est mise en jeu. Les résultats de HAMMERBERG et WILLIAMS (100) sur l'action des sérums de Rat et de Cobaye sur Taenia taeniaeformis peuvent sans doute servir de base à d'autres travaux : un polysaccharide ou un protéoglycane possédant des groupements sulfates, présent à la surface des parasites, activerait de manière similaire aux lipopolysaccharides bactériens, soit la voie classique, soit la voie alterne. Mais cela reste à démontrer chez les animaux domestiques.

En conclusion, si l'action du complément in vitro est indubitable, son rôle moindre et son activation in vivo sont encore difficiles à préciser.

Le complément intervient donc de manière très active dans les défenses de l'organisme en bonne santé, surtout dans le domaine infectieux. Mais il peut aussi expliquer certains points de la pathogénie de diverses affections, ou états pathologiques, et éventuellement, avoir un rôle diagnostic.

III - COMPLÉMENT ET PATHOLOGIE -

Les études réalisées chez les animaux domestiques sont très diverses, mais malheureusement également très ponctuelles. Aussi faut-il aborder des sujets très variés, souvent sans liaison entre eux, dans le vaste cadre de la pathologie.

- TOXICITE DES PRODUITS DE CONTRASTE RADIOGRAPHIQUE -

De nombreux milieux de contrast radiographique activent le complément in vitro (27) : métrizamine, iothalamate, diatrizoate, acétrizoate, iodipamide et iopanoate. Lorsque les Chiens reçoivent une série d'injections journalières de ces substances, une diminution du taux de complément sérique se produit. On peut même observer de la tachypnée et des vomissements lors de la deuxième injection. L'activation du complément, et peut-être des voies de coagulation, semble donc être incriminée dans le mécanisme de toxicité. In vitro, seule la voie alterne semble activée. Mais en fait, une réaction d'hypersensibilité immédiate pourrait peut-être intervenir. Ces différents produits agissent comme des toxiques minéraux, mais des substances organiques, les endotoxines, peuvent également induire une réponse particulière de l'organisme dans laquelle le complément joue un rôle majeur.

- CHOC ENDOTOXINIQUE -

Lorsque l'on injecte à un animal, par la voie intraveineuse, une préparation purifiée d'endotoxine microbienne, on observe très rapidement une hypotension importante, une leucopénie et une thrombocytopénie marquées, une hyperlactacidémie et une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). Très souvent, la mort survient et à l'autopsie peuvent être mises en évidence des lésions pulmonaires congestives, avec oedème alvéolaire et intersticiel, ainsi que des hémorragies péribronchiques et périvasculaires.

La chute du taux de complément lors de choc endotoxinique est reconnue depuis longtemps. FUST et KERESZTES (39) ont alors étudié chaque composant du complément : les quatre fractions connues à cette époque ont un taux abaissé après une injection d'endotoxine chez le Chien, ceci in vitro et in vivo. Mais le taux d'anticorps naturels n'intervient pas puisque leur adsorption ne change en rien la courbe de diminution des taux

de chaque fraction. Donc l'activation de la voie classique semble intervenir, mais sans nécessiter la présence d'anticorps, ce qui paraît très curieux. De plus, ils observent, après l'injection d'endotoxine, des troubles de la coagulation in vitro : le sang recueilli coagule mal, le temps de recalcification du plasma citraté est prolongé et l'on peut même parfois observer une thrombolyse. Cela suggère donc une consommation antérieure des facteurs de coagulation. Mais si cette étude permet de soupçonner un rôle du complément, elle ne le met pas directement en évidence.

GARNER et coll. (45), étudient alors l'effet de l'endotoxine chez les Chiens normaux et les Chiens décomplémentés ; chez ces derniers, la chute de pression artérielle et la thrombocytopénie ne se produisent pas. La vitesse de décroissance du nombre des leucocytes est beaucoup plus faible et les plaquettes perdent leur capacité de s'agréger aux fibrilles de collagène. Les taux de fibrinogène, de facteur V et surtout de facteur VII sont diminués dans des proportions beaucoup moins importantes que chez les chiens normaux. Enfin, l'état général de l'animal reste toujours satisfaisant. Ainsi le complément intervient dans la pathogénie et la genèse des symptômes : l'activation aboutit à la libération d'anaphylatoxines (C_3a et C_5a) et l'agrégation des plaquettes complément-dépendante libère, selon HENSON (61) des amines vaso-actives, puis entraîne la lyse de ces plaquettes et la coagulation. De plus, les altérations des cellules endothéliales et des leucocytes libèrent des substances procoagulantes. Chez les Chiens décomplémentés, le facteur VII ne semble pas consommé mais activé, et ceci sans doute sous l'action du facteur XII ; la coagulation intravasculaire disséminée serait donc due à l'activation de la voie extrinsèque de coagulation. Récemment, AASEN et coll. (1) ont mis en évidence l'implication des deux voies d'activation du complément lors de choc endotoxinique chez le Chien.

Tous ces résultats semblent en désaccord avec ceux de KITZMILLER et coll. (73) chez le Chat : la chute de pression artérielle, la leucopénie, l'évolution clinique et les lésions

nécropsiques sont les mêmes chez les animaux normaux ou décomplémentés.

FÜST et coll. (40) apportent à un élément de réponse à ce problème : en effet, l'irradiation des liposaccharides de E.Coli O_{89} diminue sa toxicité, mais aussi diminue son effet hypotensif et son pouvoir anticomplémentaire. Si ces résultats ne peuvent prouver que, sur l'endotoxine, les sites de toxicité et d'activation du complément sont confondus, on peut en déduire que certains symptômes, tels que la chute de pression artérielle, sont compléments-dépendants. L'absence de ce phénomène chez le Chat (ainsi d'ailleurs que chez le Lapin) serait due à la présence d'un inactivateur des anaphylatoxines (C_3INH, C_5INH), ces substances étant absentes chez le Chien. De plus, puisque l'irradiation modifie l'importance relative des deux voies d'activation impliquées lors d'injection d'endotoxine non traitée, cela semble confirmer l'observation de MORRISON (81) sur le rôle des portions lipidiques et polysaccharidiques de l'endotoxine dans l'activation du complément.

En conclusion, le complément joue un rôle prépondérant dans la pathogénie et l'évolution clinique du choc endotoxinique, ceci étant tout de même modulé par la présence ou l'absence d'inhibiteurs des anaphylatoxines.

L'endotoxine n'est qu'une composante de l'agression infectieuse, mais le complément intervient également dans le cadre général des maladies bactériennes.

- MALADIES BACTERIENNES -

Comme nous l'avons vu, le complément joue un rôle important dans les défenses de l'organisme vis à vis de septicémies, notamment colibacillaires. Cela ne semble pas toujours être le cas dans toutes les maladies infectieuses, puisque, d'après ROSE et coll. (105), les Bovins infectés par Anaplasma marginale, appartenant au groupe des Rickettsies, ne présentent aucune modification

dans leur taux de complément durant l'évolution, que la maladie sévisse sous forme aiguë ou suraiguë. Il ne semble donc pas y avoir activation et action sur le germe. Le seul rôle effectif pourrait être celui "d'antigène," aboutissant à la formation d'immunoconglutinines dont le taux augmente après l'infection.

Mais l'étude du complément peut également permettre de mieux comprendre certains aspects pathogéniques. TIMONEY (115) le démontre en étudiant l'arthrite à Rouget, due à Erysipelothrix rhusiopathiae, chez le Porc. Les lésions anatomiques ressemblent à celles obtenues chez l'homme lors d'arthrite rhumatoïde. Cette dernière est une maladie à complexes immuns, la nature exacte de l'antigène étant encore inconnue. Ces complexes immuns provoquent une déplétion du taux de complément synovial et la transformation de C_3 en C_3c et C_3d au sein même de l'articulation. Lors d'arthrite à Rouget, des anticorps agglutinants et précipitants peuvent cohabiter avec le bacille en position intra-articulaire, et il semble donc que des complexes immuns puissent se former dans la synovie. Mais le complément total et sa fraction C_3 sont, à l'inverse de ce qui se produit lors d'arthrite rhumatoïde, augmentés dans le liquide synovial. Cela semble dû à une augmentation de la perméabilité de la membrane synoviale. De plus, les produits C_3c et C_3d résultants de la dégradation de C_3 ne sont pas retrouvés dans la synovie. L'afflux de granulocytes neutrophiles au niveau articulaire semble donc dû à un facteur chimiotactique très répandu dans le monde bactérien, celui du bacille du Rouget étant encore de nature inconnue. On peut donc en déduire que le rôle des complexes immuns dans l'arthrite à Rouget est beaucoup moins important que dans l'arthrite rhumatoïde de l'homme. Le rôle du complément est donc de ce fait considérablement réduit.

Comme les bactéries, certains parasites peuvent être lysés par l'intermédiaire du complément, mais cela ne semble pas être le cas pour toutes les maladies parasitaires.

- MALADIES PARASITAIRES -

NIELSEN et coll. (88, 89) ont étudié la trypanosomiase bovine due à Trypanosoma congolense . Le turn over des protéines plasmatiques est beaucoup plus rapide lors d'infestation que dans les conditions normales, et ceci est particulièrement valable pour C_1 et C_3. De plus, les taux de complément total, de C_1, de C_1q et de C_3 sont abaissés chez les Veaux infestés. Le dosage de la properdine donne des résultats variables, suivant les variations du nombre de parasites lors de l'évolution cyclique de la parasitémie. L'activation semblerait donc se produire par les deux voies, alterne et classique.

Mais le taux de C_8 est tout à fait similaire à celui trouvé chez les Veaux témoins. Donc aucune des voies ne semble aboutir aux stades terminaux et donc à la destruction du parasite. Bien sûr, il doit y avoir libération de produits intermédiaires doués de propriétés chimiotactiques et opsonisantes qu'il y ait ou non réellement phagocytose. Mais surtout, la déplétion en complément crée une immuno-dépression très favorable à l'éclosion d'infections secondaires et une désorganisation des tissus lymphoïdes. L'activation du complément, résultant soit de la formation d'immuns-complexes, soit de la libération de substances activantes par les trypanosomes, semble donc plutôt néfaste à l'organisme.

Lors de Babésiose, une maladie due à Babesia rodhaini, appartenant aussi au groupe des Protozoaires, l'activation du complément par la voie classique a été mise en évidence, mais uniquement chez le Rat (22). Aucune conclusion prouvant un rôle destructeur vis à vis des parasites n'a pu être faite. Donc, dans les infestations à Protozoaires, l'activation du complément semble favorable au développement de complications dues à l'immunodépression. Mais le manque de données expérimentales nous masque peut-être certains points primordiaux de son action.

A côté de ces maladies générales, la pathologie rénale, bien étudiée chez l'homme, fait largement intervenir le complément, qui constitue un élément important du diagnostic des glomérulonéphrites. Ches les animaux domestiques, les découvertes sont plus restreintes.

- LES GLOMERULONEPHRITES -

Deux types d'évolution peuvent survenir : la forme aiguë ou la forme chronique membrano-proliférative.

1 - Glomérulonéphrite aiguë -

La forme rencontrée est le plus souvent post-streptococcique et ressemble, cliniquement et histologiquement, à la maladie sérique aiguë qui est le type de maladie à complexes immuns circulants. Des dépôts granuleux de complexes immuns et de complément peuvent être observés au niveau du glomérule. Cependant, le complément n'est pas rigoureusement indispensable à la survenue de la glomérulonéphrite, car la diminution préalable de son taux atténue, mais ne supprime pas la lésion rénale. Il interviendrait au niveau de la lésion histologique secondaire au dépôt.

Cette glomérulonéphrite à complexes immuns a été étudiée chez le Chien par HALLIWELL et BLAKEMORE (56). L'immuno-fluorescence a mis en évidence des dépôts linéaires de compléments au niveau du feuillet interne de la capsule de Bowman. La fraction C_3 sérique est abaissée à 25 % de sa valeur normale, alors que l'excrétion urinaire de C_3 est augmentée (130 % du taux normal).

Chez l'homme, la baisse du taux de C_3 s'accompagne du même phénomène pour C_1,C_2 et surtout C_4 à la phase initiale de la maladie, ainsi que pour la properdine et le facteur B, ce qui témoigne de l'activation par les deux voies (75). On peut donc, malgré le manque d'études, supposer que le même mécanisme se produit chez le Chien. Et si le profil complémentaire complet était réalisé chez cette espèce, la valeur diagnostic de ce dosage serait très importante, car les courbes obtenues chez l'homme sont très caractéristiques de l'affection.

2 - Glomérulonéphrite membrano-proliférative -

Cette glomérulonéphrite chronique, souvent accompagnée d'un syndrôme néphrotique, et qui évolue progressivement vers l'insuffisance rénale, est caractérisée histologiquement par des lésions

des parois capillaires glomérulaires, associées à une prolifération des cellules endocapillaires. De plus, on observe au niveau du glomérule, de gros dépôts de C_3 et de properdine. Deux formes peuvent exister : la première normocomplémentémique et la seconde hypocomplémentémique, se traduisant par une chute du taux global et de C_3, et par la présence du C_3 nephritic factor (C_3NeF) en quantité supérieure à la normale.

GARDINER (44) a retrouvé ce type de glomérulonéphrite chez l'Agneau. Le taux de C_3 sérique est très abaissé chez l'Agneau. Tous les glomérules présentent des dépôts denses de C_3 au niveau des capillaires ; on les retrouve également dans les plexus choroïdes. La diminution du taux de C_3 peut résulter de deux mécanismes : un défaut de synthèse ou un excès de consommation. L'activation semble se faire le plus souvent par la voie alterne, mais dans certaines formes trouvées chez l'homme, l'abaissement du taux de C_3 s'accompagne également d'une chute de C_4 et C_1, suggérant l'activation de la voie classique (112). Quoi qu'il en soit, chez l'Agneau, l'absence de chute brutale du taux de C_3 lors des dosages successifs dans le temps semble éliminer l'hypothèse d'une hyperactivation au profit de celle d'un défaut de synthèse, sans doute d'origine génétique, prédisposant à l'éclosion de l'affection.

En conclusion, une étude plus complète du complément dans les glomérulonéphrites animales permettrait, non seulement de préciser certains points de pathogénie, quitte à aboutir à une classification plus complexe comme celle que l'on trouve chez l'homme, mais aussi de posséder des données sur les profils complémentaires caractéristiques, permettant d'obtenir un diagnostic précis et un pronostic de plus grande valeur.

Une glomérulonéphrite peut, chez l'homme, représenter l'expression clinique d'un déficit génétique en certaines fractions du complément. Voyons quelles sont, dans ce domaine, les connaissances rapportées chez les animaux domestiques.

- LES DEFICITS GENETIQUES -

Des observations de déficits génétiques ont été décrites chez l'homme pour tous les composants de la voie classique, mis à part C_1q et C_9, et pour les inhibiteurs de C_1s et C_3b. Ils sont classés en quatre groupes (59) : déficits en composants de la voie classique d'activation de C_3 (C_1r, C_1s, C_4 et C_2), en C_3 et C_3bINH, en composants terminaux, et en C_1sINH. L'expression clinique a été rapportée dans chaque cas, mais la physiopathologie des maladies associées reste encore imprécise.

Chez les animaux de laboratoire, des déficits en C_3 et C_4 chez le Cobaye, C_5 chez la Souris et C_6 chez le Lapin ont été rapportés. Malheureusement, chez les animaux domestiques, il n'en est pas de même : une seule étude de GABRIELSEN et coll. (43) rapporte l'existence d'une déficience en C_1q chez les Poulets hypogammaglobulinémiques. En effet, chez ces animaux, le taux de C_1q sérique est très faible. Mais, en fait, dans le sérum, les IgG des groupes 1 et 3 se lient au C_1q ; dans le cas d'hypogammaglobulinémie, le C_1q ne peut s'attacher aux immunoglobulines, disparaît très vite de la circulation et est retrouvé dans le secteur extravasculaire. Aucune diminution de sa synthèse n'est observée. D'ailleurs, après administration par voie parentérale de gammaglobulines, les taux d'IgG et de C_1q sériques varient dans les mêmes proportions. Il ne s'agit donc que d'une conséquence du faible taux d'IgG, sans répercussion sur la synthèse du premier composant.

Et donc aucune étude sur les déficits génétiques n'a été faite chez les animaux domestiques.

En conclusion, comme le souligne le paragraphe précédent, le rôle du complément dans la pathogénie ou le diagnostic de différentes affections est encore très mal connu chez les animaux. Quelquefois, une transposition purement formelle des découvertes réalisées chez l'homme a été faite chez une espèce différente. Par ailleurs,

certains points n'ont pas du tout été étudiés : maladies auto-immunes, affections respiratoires ou hépatiques.... De nombreuses études restent donc nécessaires pour, non seulement, préciser certains travaux réalisés, mais aussi découvrir d'autres notions encore inconnues

C O N C L U S I O N

L'objectif de ce travail est de rassembler toutes les connaissances acquises à ce jour sur le complément chez les animaux domestiques. Lors de l'étude analytique, nous avons tout d'abord énoncé quelques généralités sur la nature, les mécanismes d'action, et les divers effets biologiques du complément, afin de mieux comprendre les parties suivantes. Tout de suite apparaissent simultanément la complexité de ce système, mais aussi son importance. Puis le dosage de son activité globale a fait l'objet d'un long développement ; ceci est rendu nécessaire, non seulement pour réaliser pratiquement ce dosage, mais aussi afin de mettre en évidence la nécessité d'utiliser une réaction bien standardisée pour chaque espèce, dans le but d'obtenir des résultats fiables et comparables. Nous avons ensuite étudié quelles étaient les fractions dosées et isolées à partir des sérums animaux, ainsi que leur interchangeabilité spécifique ; elles sont nombreuses, mais pas toujours bien connues chez certaines espèces. Enfin, le mécanisme d'action, s'il est très proche de celui observé chez l'homme, n'a pas fait l'objet de travaux assez approfondis.

Dans le vaste domaine des applications, trois parties ont été retenues : la phylogénie et l'ontogénie sont riches d'enseignements ; tout d'abord le complément apparaît dans le règne animal à partir de la classe des Chondrichtyens, mais il constitue également un des tout-premiers moyens de défense du nouveau-né, synthétisé par le foetus sous contrôle génétique en différents points de l'organisme. L'étude du rôle du complément dans les défenses de l'organisme nous permet de percevoir sa grande utilité lors d'infections bactérienne ou virale, aussi bien seul qu'en collaboration avec les leucocytes,

mais, il faut bien le reconnaître, selon un mécanisme d'action très mal connu. Son rôle lors d'infestation parasitaire semble moindre. Enfin, le paragraphe complément et pathologie aborde différentes entités pathologiques, encore trop peu nombreuses, mais qui montrent bien le rôle polyvalent que peut jouer le complément dans la genèse d'un processus morbide.

Nous pouvons donc dire que de nombreux travaux très utiles ont été réalisés. Comme toujours, ils constituent la pierre d'angle pour de nouvelles études, afin de mieux comprendre et réaliser ce que représente le complément, ce troisième facteur de l'équation immunologique.

B I B L I O G R A P H I E

1 - AASEN (A.O.), MELLBYE (O.J.) et OHLSSON (K.)
Complement activation during subsequent stages of canine endotoxin shock
Scand. J. Immunol., 1978, 8, 509-513.

2 - BANKS (K.L.) et Mc GUIRE (T.C.)
Surface receptors on neutrophils and monocytes from immunodeficient and normal horses.
Immunology, 1975, 28, 581-588.

3 - BARTA (O.) et BARTA (V.)
Haemolytic assay of bovine serum complement
J. Immunol. Methods, 1972, 1, 363-374.

4 - BARTA (O.) et BARTA (V.)
Immunoconglutinin and total conglutinating activity in bovine serum
Zentbl. Vet. Med., 1973, 20B, 57-70.

5 - BARTA (O.) et BARTA (V.)
Haemolytic and conglutinating complement in bovine serum.
Zentbl. Vet. Med., 1973, 20B, 71-82.

6 - BARTA (O.), BARTA (V.) et WILLIAMS (E.I.)
A method for titrating equine haemolytic complement
Z. ImmunForsch. exp. Klin. Immunol., 1973, 146, 114-122.

7 - BARTA (O.) et BARTA (V.)
Canine haemolytic complement:optimal conditions for its titration.
Am. J. vet. Res., 1973, 34, 653-657.

8 - BARTA (O.), BARTA (V.), SHIRLEY (R.A.) et Mc MURRY (J.D.)
Haemolytic assay of sheep serum complement.
Zentbl. Vet. Med., 1975, 22B, 254-262.

9 - BARTA (O.) et BARTA (V.)
Chicken (Gallus gallus) haemolytic complement : optimal conditions for its titration.
Immunol. Commun., 1975, 4, 337-351.

10 - BARTA (O.), NELSON (R.A.) et KUO (C.Y.)
Separation of six bovine complement components and one inactivator.
Immunol. Commun. 1976, 5, 75-86.

11 - BARTA (O.), BARTA (V.) et HUBBERT (W.T.)
Haemolytic and conglutinating complement in bovine perinates.
Zentbl. Vet. Med., 1977, 24B, 344-347.

12 - BARTA (O.) et HUBBERT (N.L.)
Testing of haemolytic complement components in domestic animals.
Am. J. vet. Res., 1978, 39, 1303-1308.

13 - BERRY (D.M.) et ALMEIDA (J.D.)
The morphological and biological effects of various antisera on avian infectious bronchitis virus
J. gen. Virol., 1968, 3, 97-102.

14 - BORDET (J.)
Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés.
Annls. Inst. Pasteur, Paris 1895, 9, 462-506.

15 - BORDET (J.)
Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné.
Annls. Inst. Pasteur, Paris 1898, 12, 688-695.

16 - BORSOS (T.) et RAPP (H.J.)
Estimation of molecular size of complement components by Sephadex chromatography.
J. Immunol., 1965, 94, 510-513.

17 - BOWLES (C.A.), WHITE (G.S.) et LUCAS (D.)
Rosette formation by canine peripheral blood lymphocytes.
J. Immunol., 1975, 114, 399-402.

18 - BROCK (J.H.), ORTEGA (F.) et PIÑEIRO (A.)
Bactericidal and haemolytic activity of complement in bovine colostrum and serum : effect of proteolytic enzymes and ethylene glycol tetraacetic acide (EGTA)
Annls. Immunol., Paris 1975, 126C, 439-451.

19 - BUCHNER (H.)
Veber die bakterientödtende Wirkung des Zellenfreien Blutserums.
Zentbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1889, 5, 817-823.

20 - Bull. Wld. Hlth. Org. 1968, 39, 935-938.

21 - CHANH (J.C.), BENEDICT (A.A.) et ABPLANALP (H.)
Association of serum haemolytic complement levels with the major histocompatibility complex in chickens.
J. exp. Med., 1976, 144, 555-561.

22 - CHAPMAN (W.E.) et WARD (P.A.)
The complement profile in Babesiosis
J. Immunol., 1976, 117, 935-938.

23 - CHILLER (J.M.), HODGINS (H.O.) et WEISER (R.S.)
Antibody response in rainbow trout (Salmo gairdneri).
II. Studies on the kinetics of development of antibody producing cells and on complement and natural hemolysis.
J. Immunol. 1969, 102, 1202-1207.

24 - COLTEN (H.R.), SILVERSTEIN (A.M.), BORSOS (T.) et RAPP (H.J.)
Ontogeny of the first component of sheep complement
Immunology, 1968, 15, 459-461.

25 - COLTEN (H.R.)
Biosynthesis of complement
Adv. Immunol., 1976, 22, 67-118.

26 - COOPER (N.R.)
The complement system. In Basic and clinical Immunology
Edition 2, Fudenberg (HH), Stites (D.P.), Caldwell (J.L.)
and al. Los Altos (California) Lange Medical Publications, 1978
ch.7

27 - CORBEIL (L.B.)
Role of the complement system in immunity and immunopathology
Vet. Clin. N. Am., 1978, 8, 585-611.

28 - CORBIN (N.C.), HUGLI (T.E.)
The primary structure of porcine C_3a anaphylatoxin.
J. Immunol., 1976, 117, 990-995.

29 - DAY (N.K.), PICKERING (R.J.), GEWURZ (H.) et GOOD (R.A.)
Ontogenic development of the complement system.
Immunology, 1969, 16, 319-326.

30 - DAY (N.K.), GEWURZ (H.), PICKERING (R.J.) et GOOD (R.A.)
Ontogenetic development of C_1q synthesis in the piglet.
J. Immunol., 1970, 104, 1316-1319.

31 - DAY (N.K.), GEWURZ (H.), JOHANNSEN (R.), FINSTAD (J.) et
GOOD (R.A.)
Complement and complement like activity in lower vertebrates.
J. exp. Med., 1970, 132, 941-950.

32 - EHRLICH (P.) et MORGENROTH (J.)
Zur theorie der lysinwirkung
Berl. klin. Wschr., 1899, 36, 6-9.

33 - EHRLICH (P.) et MORGENROTH (J.)
Studies on haemolysis
Berl. klin. Wschr. 1901, 38, 569-598.

34 - EMELYANENCO (P.A.) et GRIZLOVA (O.N.)
Haemolytic relationship of complement in mother-foetal system. in World assoc. buatrics congr. VII. int. meet. dis. cattle London. 1972. Basingstoke. World assoc. buatrics congr.(s.d.) 163-166.

35 - FERRATA (A.)
Die Unwirksamkeit der Komplexen Hämolysine in salzfreien Lösungen und ihre Ursache.
Berl. klin. Wschr., 1907, 44, 366-368.

36 - FLEXNER (S.) et NOGUCHI (H.)
Snake venom in relation to haemolysis, bactériolysis and toxicity
J. exp. Med., 1903, 6, 277-301.

37 - FONG (J.), MUSCHEL (L.) et GOOD (R.)
Kinetics of bovine complement. I. Formation of a lytic intermediate.
J. Immunol. 1971, 107, 28-33.

38 - FONG (J.), MUSCHEL (L.) et GOOD (R.)
Kinetics of bovine complement. II. Properties of the lytic intermediate.
J. Immunol., 1971, 107, 34-40.

39 - FÜST (G.) et KERESZTES (M.)
Effect of endotoxin on serum level of complement compounds. II. Effect of endotoxin on dog serum complement level in vivo and in vitro
Acta microbiol. hung., 1969, 16, 135-147.

40 - FÜST (G.), et BERTOK (L.) et JUHASZ-NAGY (S.)
Interactions of radio-detoxified Escherichia Coli endotoxin preparations with the complement system.
Inf. Immunity, 1977, 16, 26-31.

41 - GABRIELSEN (A.E.), PICKERING (R.J.) et GOOD (R.A.)
Haemolysis in chicken serum. I. The ionic environment
Immunology, 1973, 25, 167-177.

42 - GABRIELSEN (A.E.), PICKERING (R.J.) et LINNA (T.J.)
Haemolysis in chicken serum. II. Ontogenetic development.
Immunology, 1973, 25, 179-184.

43 - GABRIELSEN (A.E.), LINNA (T.J.) et WEITEKAMP (D.P.)
Reduced haemolytic C_1 activity in serum of hypogammaglobulinaemic chickens
Immunology, 1974, 27, 463-468.

44 - GARDINER (A.C.)
Mesangiocapillary glomerulonephritis in lambs. Quantitative and qualitative aspects of immuno-pathology.
J. Path., 1976, 119, 11-19.

45 - GARNER (R.), CHATER (B.V.) et BROWN (D.L.)
The role of complement in endotoxin shock and disseminated intra-vascular coagulation : experimental observation in the dog.
Br. J. Haemat., 1974, 28, 393-401.

46 - GEIGER (H.), DAY (N.K.) et GOOD (R.A.)
Ontogenetic development and synthesis of haemolytic C_8 by piglet tissues.
J. Immunol., 1972, 108, 1092-1097

47 - GEIGER (H.), DAY (N.K.) et GOOD (R.A.)
The ontogenetic development of the later complement-components in fetal piglets.
J. Immunol., 1972, 108, 1098-1104.

48 - GEWURZ (H.), SOUTH (M.A.) et GOOD (R.A.)
The ontogeny of the complement activity. Complement titers in the developing chick embryo during graftversus host reaction.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1966, 123, 718-721.

49 - GIGLI (I.) et AUSTEN (K.F.)
Phylogeny and functions of the complement system.
A. Rev. microbiol., 1971, 25, 309-332.

50 - GORDON (J.), WHITE HEAD (H.R.) et WORWALL (A.)
The action of ammonia on complement. The fourth component.
Biochem. J., 1926, 20, 1028-1035.

51 - GOTZE (O.), et MÜLLER-EBERHARD (H.J.)
The alternative pathway of complement activations.
Adv. Immunol., 1976, 24, 1-35.

52 - GRANT (C.K.), WORLEY (M.B.) et DE BOER (D.J.)
Detection of complement-dependent lytic antibodies in sera from feline-leukemia virus infected cats by the ^{51}Cr release assay.
J. natn. Cancer Inst., 1977, 58, 157-161.

53 - GRANT (C.K.), DE BOER (D.J.), ESSEX (M.), WORLEY (M.B.) et HIGGINS (J.)
Antibodies from healthy cats exposed to feline leukemia virus lyse feline lymphoma cells slowly with cat complement.
J. Immunol., 1977, 119, 401-406.

54 - GRANT (C.K.)
Complement specificity and interchangeability : measurement of haemolytic complement levels and use of the complement-fixation test with sera from common domesticated animals.
Am. J. vet. Res., 1977, 38, 1611-1617.

55 - GRANT (C.K.), ESSEX (M.), PEDERSEN (N.C.), HARDY (W.D.), STEPHENSON (J.R.), COTTER (S.M.) et THEILEN (G.H.)
Lysis of feline lymphoma cells by complement-dependent antibodies in feline leukemia virus contact cats. Correlation of lysis and antibodies to Feline Oncornavirus associated cell Membrane Antigen.
J. natn. Cancer Inst., 1978, 60, 161-166.

56 - HALLIWELL (R.E.W.) et BLAKEMORE (W.F.)
A case of immune complex glomerulonephritis in a dog.
Vet. Rec., 1972, 90, 275-280.

57 - HAMMERBERG (B.) et WILLIAMS (J.F.)
Physicochemical characterization of complement-interacting factors from Taenia taeniaeformis.
J. Immunol., 1978, 120, 1039-1045.

58 - HARALAMBIEV (H.)
Kinetics of neutralization of two strains of myxovirus parainfluenza 3 in the presence of complement and antigamma-globulins serum.
Arch. exp. Vet. Med., 1975, 29, 193-197.

59 - HAUPTMANN (G.)
Les déficits génétiques en complément.
Nouv. Presse méd., 1978, 7, 3443-3447.

60 - HEGEDÜS (A.) et GREINER (H.)
Quantitative Bestimmung der Komplement-bestandteile.
Z. ImmunForsch. exp. Ther., 1938, 92, 1-9.

61 - HENSON (P.M.)
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement. I. Lytic and non lytic reactions.
J. Immunol., 1970, 105, 476-489.

62 - HERD (R.P.)
The cestocidal effect of complement in normal and immune sera in vitro.
Parasitology, 1976, 72, 325-334.

63 - HILL (I.R.) et PORTER (P.)
Studies of bactericidal activity to Escherichia Coli of porcine serum and colostral immunoglobulins and the role of lysosyme with secretory IgA.
Immunology, 1974, 26, 1239-1250.

64 - HILL (A.W.), SHEARS (A.L.) et HIBBITT (K.G.)
Increased antibacterial activity against Escherichia Coli in bovine serum following the induction of endotoxin tolerance.
Inf. Immunity., 1976, 14, 257-265.

65 - HILL (A.W.), SHEARS (A.L.) et HIBBITT (K.G.)
The requirement of specific antibody for the killing of Escherichia Coli by the alternate complement pathway in bovine serum.
Immunology, 1978, 34, 131-136.

66 - JENSEN (J.A.)
A specific inactivator of mammalian C'_4 isolated from nurse shark (Ginglymostoma cirrutum) serum.
J. exp. Med., 1969, 130, 217-241.

67 - JONAS (W.E.)
A component of complement in some body fluids of sheep.
Res. vet. Sci., 1970, 2, 327-333.

68 - JONAS (W.E.) et BROAD (J.)
Complement activity of sheep body fluids and human and Guinea pig colostrum.
Res. vet. Sci., 1972, 13, 154-159.

69 - JONSEN (J.), MANSKI (W.) et HEIDELBERGER (M.)
Pig complement and its fractionation for the production of reagents containing third component.
J. Immunol., 1951, 67, 385-391.

70 - KABAT (E.A.) et MAYER (M.M.)
Experimental immunochemistry
1 vol. Springfield 1948, Thomas ed.

71 - KAKOMA (I.) et KINYANJUI (M.)
Complement levels of normal cattle.
Res. vet. Sci., 1974, 16, 395-397.

72 - KASSIS (A.I.) et TANNER (C.E.)
The role of complement in hydatid disease : in vitro studies.
Int. J. Parasit., 1976, 6, 25-35.

73 - KITZMILLER (J.L.), LUCAS (W.E.) et YELENOSKY (P.F.)
Role of complement in feline endotoxin shock.
Am. J. Obstet. Gynec. ,1972, 112, 414-421.

74 - KOBILINSKY (L.), HARDY (W.D.), KASSEL (J.R.), OLD (L.J.) et DAY (N.K.)
Hypocomplementemia in Feline lymphosarcoma.
J. Immunol., 1978, 120, 1779.

75 - KOURILSKY (O.)
Le complément. Documentation Behring, 1974.

76 - LEON (M.A.), PLESCIA (O.J.) et HEIDELBERGER (M.)
The preparation and properties of fractions of pig complement.
J. Immunol., 1955, 74, 313-317.

77 - LEON (M.A.) et NORDEN (A.)
Kinetics of equine complement.
J. Immunol., 1959, 83, 99-106.

78 - LEVINE (L.), COWAN (K.M.), OSLER (A.G.) et MAYER (M.M.)
Studies on the role of Ca^{2+} and Mg^{2+} in complement fixation and immune hemolysis. I. Uptake of complement nitrogen by specific precipitates and its inhibition by Ethylene Diamine Tetraacetate.
J. Immunol. 1953, 71, 359-366.

79 - MADEWELL (B.R.)
Serum complement level in dogs with neoplastic disease.
Am. J. vet. Res., 1978, 39, 1373-1376.

80 - MAYER (M.M)
The complement system.
Scient.Am., 1973, 229, 54-66.

81 - MORRISON (D.C.)
Two mechanisms for the activation of serum complement by bacterial lipopolysaccharides : a role for lipid A in only one of them.
J. Immunol., 1976, 116, 1742-1743.

82 - MUIR (R.)
On the relationships between the complements and immune bodies of different animals.
J. Path. Bact., 1911-1912, 16, 523-534.

83 - MÜLLER (F.) et SEGERLING (M.)
Comparative studies on the haemolytic and Treponema pallidum immobilizing complement activity in the serum of different species
Immunology., 1970, 18, 13-18.

84 - NAGY (G.) et FODOR (D.)
Comparative studies on complement preservation.
Acta vet. hung., 1973, 23, 237-239.

85 - NELSON (R.A.)
A new concept of immunosuppression in hypersensitivity reactions and in transplatation immunity.
Surv. Ophtalmol., 1966, 11, 498-505.

86 - NELSON (R.A.) et GIGLI (I.)
Initial studies on the phylogeny of the complement system.
J. Immunol., 1968, 101, 815-816.

87 - NIELSEN (K.H.) et WHITE (R.G.)
Effect of host decomplementation on homeostasis of antibody production in fowl.
Nature, London, 1974, 250, 234-235.

88 - NIELSEN (K.), SHEPPARD (J.), HOLMES (W.) et TIZARD (I.)
Experimental bovine trypanosomiasis : Changes in the catabolism of serum immunoglobulins and complement components in infected cattle.
Immunology, 1978, 35, 811-816.

89 - NIELSEN (K.), SHEPPARD (J.), HOLMES (W.) et TIZARD (I.)
Experimental bovine trypanosomiasis : Changes in serum immunoglobulins, complement, and complement components in infected animals.
Immunology, 1978, 35, 817-826.

90 - OLSEN (R.G.), KRAKOWKA (S.G.), MATHES (L.E.) et YOHN (D.S.)
Composite complement : a mixture of feline C_1 and Guinea pig complement as a reagent compatible with feline antibodies.
Am. J. vet. Res., 1974, 35, 1389-1392.

91 - O'NEILL (G.J.), HARDY (W.D.), KASSEL (J.R.), OLD (L.J.) et DAY(N.K.)
Complement and feline leukemia.
J. Immunol., 1976, 116, 1744.

92 - PANG (A.S.D.) et ASTON (W.P.)
The role of the first component of the bovine complement system in the haemolytic activity of a bovine derived lytic intermediate.
Life Sci., 1974, 14, 1857-1869.

93 - PANG (A.S.D.) et ASTON (W.P.)
Alternative complement pathway in bovine serum : lysis of human erythrocytes.
Am. J. vet. Res., 1977, 38, 355-359.

94 - PELTIER (A.)
Actualités en Immunologie : le complément 2ème partie.
Ass. Anc. Elèv. Inst. Pasteur, 1978, n°75, 5-9.

95 - PERRIN (L.H.), JOSEPH (B.S.), COOPER (N.R.) et OLDSTONE (M.B.)
Mechanism of injury of virus infected cells by antiviral antibody and complement : participation of IgG.F(ab)$_2$ and the alternative complement pathway.
J. exp. Med., 1976, 143, 1027-1041.

96 - PFEIFFER (R.) et ISSAEFF (R.)
Über die specifische Bedentung der Choleraimmunität.
Z. Hyg. Infeckt. Krankh., 1894, 17, 355

97 - RADWAN (A.I.) et CRAWFORD (T.B.)
The mechanisms of neutralization of sensitized equine arteritis virus by complement components.
J. gen. Virol., 1974, 25, 229-237.

98 - REITER (B.) et BROCK (J.H.)
Inhibition of Escherichia Coli by bovine colostrum and post colostral milk : I. Complement mediated bactericidal activity of antibodies to a serum susceptible strain of E.Coli of the serotype O_{111}.
Immunology, 1975, 28, 71-82.

99 - RENSHAW (H.W.), ECKBLAD (W.P.), THACKER (D.L.) et FRANK (F.W.)
Antibacterial host defense : in vitro interaction of bacteria, serum factors, and leucocytes from precolostral dairy calves and their dams.
Am. J. vet. Res., 1976, 37, 1267-1274.

100 - RENSHAW (H.W.), ECKBLAD (W.P.), TASSINARI (P.D.) et EVERSON (D.O.)
Levels of total haemolytic complement activity in paired dairy cow-newborn calf sera.
Immunology, 1978, 34, 801-805.

101 - RICE (C.E.) et CROWSON (N.)
The interchangeability of the complement components of different animal species : II. In haemolysis of sheep erythrocytes sensitized with rabbit amboceptor.
J. Immunol., 1950, 65, 201-210.

102 - RICE (C.E.) et BOULANGER (P.)
The interchangeability of the complement components of different animal species : IV. In the haemolysis of rabbit erythrocytes sensitized with sheep antibody.
J. Immunol., 1952, 68, 197-206.

103 - RICE (C.E.) et DUHAMEL (L.)
A comparison of the complement conglutinin and natural antisheep red cell antibody titers of the serum of newborn and older calves.
Can. J. comp. Med., 1957, 21, 109-116.

104 - RICE (C.E.), SILVERSTEIN (A.M.)
Haemolytic complement activity of sera of foetal and newborn lambs
Can. J. comp. Med., 1964, 28, 34-37.

105 - ROSE (J.E.), AMERAULT (T.E.), ROBY (T.O.), MARTIN (W.H.)
Serum levels of conglutinin, complement and immunoconglutinin in cattle infected with Anaplasma marginale.
Am. J. vet. Res., 1978, 39, 791-793.

106 - ROSE (M.E.) et ORLANS (E.)
Fowl antibody : III. Its haemolytic activity with complements of various species and some properties of fowl complement.
Immunology, 1962, 5, 633-641.

107 - ROSE (M.E.) et ORLANS (E.)
Fowl antibody : IV. Estimation of haemolytic fowl complement.
Immunology, 1962, 5, 642-648.

108 - ROSSI (C.R.) et KIESEL (G.K.)
Bovine peripheral blood monocyte cultures. Growth characteristics and cellular receptors for immunoglobulin G and complement.
Am. J. vet. Res., 1977, 38, 559-563.

109 - ROUSE (B.T.), GREWAL (A.S.) et BABIUK (L.A.)
Complement enhances antiviral antibody-dependent cell cytotoxicity.
Nature, London, 1977, 266, 5601, 456-458.

110 - SARGENT (A.U.) et AUSTEN (K.F.)
The effective molecular titration of the early components of Dog complement.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1970, 133, 1117-1122.

111 - SARGENT (A.U.), JOHNSON (S.B.) et RICHARDSON (A.K.)
The isolation and functional purification of the first seven components of canine haemolytic complement.
Immunochemistry, 1976, 13, 823-829.

112 - SOBEL (A.)
Actualités du complément : 4. complément et néphrologie.
Bulletin Behring Biologie, 1978.

113 - STAUB (A.M.) et ETIEVANT (M.)
De l'alexine aux 9 constituants actuels du complément.
Bull. Inst. Past. Paris, 1971, 69, 295-317.

114 - TAYLOR (D.), HOKAMA (Y.) et PERRI (S.F.)
Differentiating feline T and B lymphocytes by rosette formation.
J. Immunol., 1975, 115, 862-865.

115 - TIMONEY (J.F.)
Erysipelas arthritis in Swine : concentrations of complement and third component of complement in synovia.
Am. J. vet. Res., 1976, 37, 5-8.

116 - VAIMAN (M.), HAUPTMANN (G.) et MAYER (S.)
Influence of the major histocompatibility complex in the pig (SLA) on serum haemolytic complement levels.
J. Immunogenetics, 1978, 5, 59-65.

117 - VARGUES (R.), GRENIER (B.) et LORTHOLARY (J.)
Action des sérums de diverses espèces animales sur l'activité respiratoire de E.Coli.
C. r. Séance Soc. Biol., 1961, 155, 1379-1382.

118 - VARGUES (R.), MORAUD (B.) et LORTHOLARY (J.)
Taux du complément hémolytique (C') dans les sérums d'animaux nouveaux-nés.
C.r. Séance Soc. Biol., 1962, 156, 733-737.

119 - VARGUES (R.), et TAGNON (A.)
Dosage du complément des sérums humains avec l'autoanalyseur Technicon.
Technicon Symposium européen, Novembre 1967.

120 - VEYSSEYRE (C.)
Actualités du complément : 8-complément et pédiatrie.
Bulletin Behring Biologie, 1978.

121 - WARD (P.A.) et ROMUALDEZ (A.G.)
A unique complement derived chemotactic factor for tumor cells.
Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A., 1975, 72, 4128- 4132.

122 - WIRTZ (G.H.)
Avian complement : Duck complement and natural duck haemolysin.
Immunochemistry., 1967, 4, 118-121.

123 - ZIMMERMAN (T.S.), ARROYAVE (C.M.) et MÜLLER-EBERHARD (H.J.)
A blood coagulation abnormality in rabbit deficient in the sixth component of complement (C_6) and its connection by C_6
J. exp. Med., 1971, 134, 1591-1601

Vu : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur R. LAUTIE

Vu : Le Président de la Thèse

Professeur : Mme ENJALBERT

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 28.02.1980
P/ LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PAUL SABATIER, et par délégation
LE VICE-PRESIDENT,

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER - TOULOUSE

Professeur L. LARENG

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION ..... p. 2

1ère PARTIE : ETUDE ANALYTIQUE DU COMPLEMENT..... p. 3

1 - GENERALITES ..... p. 3

- Définition et propriétés générales ..... p. 3
- Historique ..... p. 4
- Les différentes fractions ..... p. 6
- Les voies d'activation ..... p. 9
- Les effets biologiques du complément ..... p. 17

2 - DOSAGE DE L'ACTIVITE GLOBALE DU COMPLEMENT .. p. 25

- Méthodes ..... p. 25
- Conditions optimales pour le titrage du complément p. 28
- Résultats ..... p. 37

3 - MISE EN EVIDENCE DES DIFFERENTES FRACTIONS DU COMPLEMENT ..... p. 37

4 - MECANISMES D'ACTION ..... p. 49

2ème PARTIE : APPLICATIONS ..... p. 51

1 - PHYLOGENIE ET ONTOGENIE ..... p. 51

- Phylogénie ..... p. 51
- Ontogénie ..... p. 58

2 - ROLE DU COMPLEMENT DANS LES DEFENSES DE L'ORGANISME ..... p. 65

- Infection bactérienne ..... p. 65
- Infection virale ..... p. 71
- Infestation parasitaire ..... p. 75

3 - COMPLEMENT ET PATHOLOGIE ..... p. 77

- Toxicité des produits de contraste radiographique p. 78
- Choc endotoxinique ..... p. 78
- Maladies bactériennes ..... p. 80
- Maladies parasitaires ..... p. 82

- Les Glomérulonéphrites ..... p. 83
- Les déficits génétiques ..... p. 85

CONCLUSION ..... p. 87

BIBLIOGRAPHIE ..... p. 89